

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

Stoffwechsel und Verteilung des Morphins und seiner Derivate im Körper

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Carl Gesellensetter
aus München

Erlangen 1972

1973 12 7



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548611_0095

Aus dem Institut für Rechtsmedizin
der Universität Erlangen-Nürnberg

Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

Stoffwechsel und Verteilung des Morphins und seiner Derivate im Körper

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von

Carl Gesellensetter

aus Münchberg

Erlangen 1972

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät der
Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. Dr. H. Pauly

Referent: Prof. Dr. Dr. M. Geldmacher von Mallinckrodt

Korreferent: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

Tag der mündlichen Prüfung: 19.12.1972

Meiner Frau,
meiner Tochter Ina,
meinen Eltern

I n h a l t s v e r z e i c h n i s

	Seite
A. <u>Einleitung</u>	
Morphin als Prototyp aller Opiate	5
B. <u>Hauptteil</u>	
Stoffwechsel und Verteilung des Morphins und seiner Derivate im Körper	9
I. <u>Die Desalkylierung</u>	10
1. Die N-Desalkylierung	
a) in-vitro-Versuche	10
b) in-vivo-Versuche	19
c) Hemmung und Stimulierung der N-Desalkylierung	24
d) Mechanismus der N-Desalkylierung	39
e) Pharmakologische Konsequenzen der N-Desalkylierung	41
2. Die O-Desalkylierung	45
Gegenüberstellung beider Arten der Desalkylierung	
Abbau von Codein zu Morphin	
Enzymatische Grundlagen für die Desalkylierung	
II. <u>Hydrolyse am Beispiel des Heroins</u>	53
III. <u>Ausscheidungsprodukte aus dem Morphin- stoffwechsel</u>	56
1. Ausscheidung als reines Morphin und als Morphin-3-Glukuronid	56
2. Einfluß exogener Glukuronsäure	57
3. Enzymatischer Mechanismus der Morphin-Glukuronid-Bildung	60
4. Einfluß der Dosis auf die Stoff- wechselkurve	62

	Seite
IV. <u>Verteilung des Morphins</u>	64
<u>im Körper</u>	
1. Die Blut-Hirn-Schranke	64
2. Die N-Demethylierung von Morphin im Gehirn	65
3. Verteilungsstudien mit radioaktiv gekennzeichneten Analgetika	68
a) N-C ¹⁴ -Morphin	68
b) Dihydromorphin - H ³	69
4. Bedeutung der Gewöhnung für Organ- und Blutspiegel an freiem und ge- bundenem Morphin	71
5. Einfluß einer verlängerten Verab- reichung von Morphin auf Blut-, Organ- und Urinspiegel	73
6. Einfluß von Nalorphin auf Leber- und Blutspiegel von Morphin	76
V. <u>Der Stoffwechsel des Codeins</u>	79
1. Die Desalkylierung	
a) O-Desalkylierung zu Morphin	79
b) N-Desalkylierung zu Norcodein	80
2. Codein-Glukuronid-Bildung	80
3. Ausscheidungsprodukte aus dem Codein-Stoffwechsel	81
VI. <u>Der Stoffwechsel des Heroins -</u> <u>Verteilung und Wirkungsmechanismus</u>	83
C. <u>Diskussion</u>	85
D. <u>Zusammenfassung</u>	95
E. <u>Formelsammlung</u>	97
F. <u>Literaturverzeichnis</u>	105

A. EINLEITUNG

Morphin als Prototyp aller Opiate

Wenn man an Morphin - oder allgemein - an Opiate denkt, so verbindet man hiermit in erster Linie den Gedanken an ihre analgetische und suchterzeugende Wirkung.

Unter Opiaten versteht man Pharmaka, die in ihrer Wirkung dem Hauptalkaloid des Opiums - dem Morphin - verwandt sind. Die Gewinnung der Opiate kann nativ, halb- oder vollsynthetisch erfolgen. Im eingetrockneten Saft der Mohnkapsel sind verschiedene Alkaloide enthalten: Morphin ca. 10%, Narcotin 6%, Papaverin 0,8% (Papaverin ist kein Opiat!), sowie Codein, Narcein und Thebain (nach Kuschinsky und Lüllmann 1970).

Die Hauptwirkung des Morphins ist der analgetische Effekt. Er kommt durch die Wirkung des Alkaloids auf die sensible Hirnrinde zustande, eventuell auch auf Zentren im Diencephalon. Der eigentliche Wirkungsmechanismus konnte bislang noch nicht geklärt werden. Appliziert man bei einem Erwachsenen eine Einzeldosis von 0,01 g, so zeigt sich schon bei dieser Menge als recht spezifische Wirkung die Unterdrückung der Schmerzempfindung. Als Nebenwirkung treten jedoch auch schon bei diesen Mengen hypnotischer Zustand und verminderte geistige Aktivität des Patienten auf. Höhere Dosen bewirken dann narkoseartige Zustände mit Bewusstseinsverlust. Weithin bekannt und charakteristisch für Morphin ist, daß nach therapeutischen Dosen die Stimmungslage des Patienten verändert ist. Angst- und Unlustgefühle werden beim depressiv gestimmten Patienten beseitigt und an ihre Stelle tritt eine "rosarote" Stimmung. Der Patient gerät in Euphorie. - Anders liegen die Dinge bei normalgestimmten Personen. Bei ihnen treten nach Morphingabe häufig Unruhe,

Erregungszustände, Dysphorie auf.

Morphin hemmt das Atemzentrum. Die gleiche Wirkung übt es auf das Hustenzentrum aus. Diese Erscheinung, die bei Überdosierung zum Atemstillstand und damit zum Tode führen kann, macht man sich dadurch zunutze, daß man ein sehr wichtiges und populäres Derivat des Morphins, das Codein, in Hustenmittel einbaut. Das Atemzentrum von Neugeborenen und Kleinkindern ist besonders empfindlich gegenüber Opiaten. Da diese Substanzen die Plazentarschranke durchdringen, verbietet sich die Anwendung von Opiaten während der Geburt.

Aus den oben genannten Eigenschaften ergibt sich schon zum Teil die Indikation für Morphin. Es ist in erster Linie indiziert bei stärksten Schmerzen, die durch nichts anderes mehr beeinflusst werden können. Allerdings ist darauf zu achten, daß Morphin niemals leichtfertig verordnet wird, da sich daraus Gewöhnung und Sucht ergeben können. Deshalb soll bei Patienten, deren Genesung wahrscheinlich ist, Morphin nicht länger als 14 Tage gegeben werden und in gerade ausreichenden Dosen. Bei finalen Zuständen kann es unbedenklich angewandt werden (Kuschinsky und Lüllmann 1970). Morphin ist kontraindiziert bei gefährdeter zentraler Atemregulation durch andere Pharmaka, oder wenn die zum Gasaustausch zur Verfügung stehende Lungenoberfläche eingeschränkt ist (z.B. entzündliches Lungenödem, Emphysem).

Dem Laien ist neben der analgetischen Wirkung der Opiate, speziell des Morphins, vor allem die Suchterzeugung bekannt. Die Morphingewöhnung entwickelt sich bei längerdauernder Zufuhr. Sie ist keineswegs spezifisch, sondern schließt auch alle halb- und vollsynthetischen Opiate ein. Nach täglichen "normalen" Dosen wird nach etwa drei Wochen eine Erhöhung der Dosis notwendig. Die Gewöhnung kann ungeheure Ausmaße annehmen und bis zum 100-fachen der anfänglichen Dosis von 0,01 g pro Tag erreichen. Bei

chronischer Zufuhr von Morphin entwickelt sich aus der Gewöhnung die Morphinsucht. Dabei kann man jedoch keine Aussage im Vornherein machen, ob eine bestimmte Person zur Sucht neigt oder nicht. Als gefährdet muß daher jeder Patient angesehen werden. Charakteristisch für die Morphinsucht sind die Euphorie nach der Applikation, der Morphin hunger und die Entziehungssymptome bei Unterbrechung der Morphin-zufuhr.

Als Folge der chronischen Morphinvergiftung - als solche muß man die Sucht ansehen - treten Anämie, frühzeitige Alterung und infolge von Appetitlosigkeit starker Gewichtsverlust auf. Die psychischen Symptome sind weitgehend abhängig von der Persönlichkeit und dem sozialen Milieu des Betroffenen. Der Morphin hunger kann den Menschen so weit treiben, illegale Wege zu beschreiten, um an das Mittel heranzukommen. Auf legalem Wege kommen fast ausschließlich die medizinischen Berufe an Opiate, was dazu führt, daß sie den zwar höchsten Prozentsatz an Süchtigen stellen, jedoch illegale Wege von ihnen nur selten beschritten werden. So wird also das Bild des Morphinsüchtigen nicht nur von der pharmakologischen Wirkung bestimmt, sondern auch weitgehend von seinem sozialen Milieu. Bei allen Verfallserscheinungen bei Morphinsucht ist zu bemerken, daß die Intelligenz noch lange erhalten bleiben kann.

Wird die Opiatzufuhr bei einem Süchtigen unterbrochen, so kommt es zu den sog. Entziehungssymptomen. Sie beginnen wenige Stunden nach der letzten Gabe mit starkem Morphin hunger. Anschließend entwickeln sich Unruhe, Depression, Reizbarkeit, Schwäche, Diarrhoe, Kreislaufversagen (u.U. lebensbedrohlich), Stenokardie, Erbrechen, Schweißausbrüche usw. Dieser Zustand kann ein bis zwei Wochen anhalten und ist durch eine Opiatzufuhr jederzeit zu durchbrechen. Auch nach Nalorphin, dem spezifischen Antidot gegen alle Opiate, treten bei Süchtigen Entziehungssymptome auf. Nach Abklingen der Entziehungssymptome ist meist

auch die Sucht überwunden, d.h. Euphorie kann schon wieder bei normalen Dosen von 0,01 g entstehen. Entziehungskuren können nur in geschlossenen Anstalten durchgeführt werden, immer in Zusammenarbeit mit Psychotherapeuten. Leider gibt es unter den "als geheilt Entlassenen" sehr häufig Rückfälle.

Morphin sollte hier einleitend als Beispiel für alle Opiate stehen. Die grundsätzliche Wirkungsweise ist bei allen Opiaten gleich und die wichtigsten Eigenschaften sollten in diesen einleitenden Bemerkungen aufgezeigt werden. Die Wirkungsstärke bei gleichen Dosen ist bei den verschiedenen Opiaten jedoch - in Abhängigkeit von ihrer chemischen Struktur - sehr verschieden. Es ist auch wichtig, wie das Opiat verabreicht wird, ob oral, parenteral, ob chronisch oder kurzfristig. Wie sich das Morphin im Körper des Menschen oder von Versuchstieren verschiedener Gattung verteilt, welchen metabolischen Veränderungen es unterliegt, wie und auf welchem Wege es ausgeschieden wird und schließlich welche Unterschiede zwischen den einzelnen Derivaten des Morphins bestehen, soll im folgenden Hauptteil der vorliegenden Arbeit abgehandelt werden. Als Grundlage wurden nur die neuesten Forschungsergebnisse verwandt; der Rahmen dieser Arbeit erlaubt es nur, die wichtigsten Versuche und Daten in kurzer Form zu beschreiben..

(Ältere Literatur siehe Schaumann 1957)

B. Stoffwechsel und Verteilung des Morphins und seiner Derivate im Körper

Betrachtet man die Reihe der Morphin - Derivate an ihrer Spitze Morphin selbst, so erkennt man, daß die Biotransformation, die biologische Umwandlung der Verbindungen im Körper, der wichtigste Faktor ist, der die Intensität und Dauer der Wirkung von Morphin und seinen Derivaten bestimmt. In einigen Fällen kann die Biotransformation sogar entscheidend sein für die aktive Wirkung eines Mittels. Während jedes einzelne Derivat dieser Gruppe ganz speziellen Ab- und Umbaubedingungen unterliegt, die in seiner besonderen Struktur begründet sind, gibt es dennoch gewisse metabolische Wege, die all diesen Verbindungen gemeinsam sind. Die wichtigsten sind die Desalkylierung, Konjugierung, Hydrolyse und Hydroxylierung.

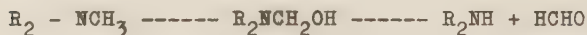
Es wurden gerade in den letzten Jahren viele umfangreiche Versuche unternommen, die die wesentlichen Schritte im Stoffwechsel von Morphin und seinen Analogen untersuchten. Genaue, äußerst spezielle und immer wieder verbesserte Methoden erlauben es heute, den Stoffwechsel der Morphinreihe in vitro sehr genau zu untersuchen und nachzuvollziehen, so daß die Ansicht von Way (1968), in-vitro-Versuche seien nur mit äußerster Vorsicht verwertbar, sich wohl kaum mehr mit der Meinung der Mehrzahl der Forscher deckt. Über den normalen in-vivo-Stoffwechsel dieser Mittel hinaus erlauben manche in-vitro-Versuche Schlüsse und Folgerungen, wie sie durch in-vivo-Experimente kaum oder nur äußerst schwer und ungenau erhalten werden können.

I. Die Desalkylierung

1. Die N-Desalkylierung

Zunächst zeigen wir einige Versuche zur N-Desalkylierung beschrieben. Dieser Stoffwechselschritt ist den meisten, wenn nicht allen Stoffen dieser Reihe gemein. Zum ersten Mal wurde er 1949 und 1952 beschrieben, als bei Studien über Meperidin nach Verabreichung dieses Mittels im Urin von Ratten und Menschen Normeperidin nachgewiesen werden konnte. Von da an wurde die N-Desalkylierung eigentlich bei allen untersuchten narkotischen Analgetika gefunden (Way. 1968).

Es sei eine kurze Formulierung des Vorganges der N-Demethylierung aufgezeigt:



(R bedeutet Radikal).

Aus obiger Formulierung ist ersichtlich, daß aus 1 Mol Substrat 1 Mol Formaldehyd entsteht. Die Menge des bei den Versuchen entstandenen Formaldehyds wird gemessen und man kann so leicht Rückschlüsse auf den Grad der N-Demethylierung ziehen. - Versuchsbeschreibung nach Franklin (1965):

Gewebspräparation: Es wurden männliche Ratten (150 - 200 g) verwandt. Die Tiere wurden getötet, die Leber entfernt und auf Eis gelegt. Es wurde ein 20%iges Homogenat hergestellt und 15 Minuten lang bei 10.000 g zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit, die die Mikrosomen und die lösliche Fraktion enthielt, wurde

dekantiert und bis zum Gebrauch bei 0 Grad C aufbewahrt.

Bestimmung der Enzym - Aktivität:

Die Brutmischung enthielt (nach Axelrod 1956) an Mikrosomen und löslicher Fraktion ein Äquivalent von 200 mg frischer Leber, 2 mM Substrat, 40 mM Nikotinamid, 3 mM $MgCl_2$, 5 mM neutralisiertes Semikarbazid HCl, 0,1 mM NADP, 50 mM Phosphatpuffer (pH 7,4), aqua dest. zu einem Gesamtvolumen von 5 ml. Das Präparat wurde 2 Std. bei 37 Grad C im bewegten Wasserbad aerob bebrütet. Anschließende Behandlung umfaßte unter anderem eine weitere Bebrütung bei 60 Grad C 30 Minuten lang. Der entstehende Formaldehyd wurde spektrophotometrisch bestimmt in einem Beckman Modell B Spektrometer bei 412 $m\mu$

Ergebnisse:

Das Lebermikrosomen-Präparat wurde mit 2 mM Morphin bebrütet. Dabei blieb die Demethylierungsrate 90 Minuten lang konstant. Nach 120 Minuten konnte keine Formaldehyd - Bildung mehr nachgewiesen werden. Die Höhe der Morphin - Demethylierung stieg mit der Substratkonzentration. Bemerkenswert ist, daß bei hohen Substratkonzentrationen keine Enzymhemmung mehr beobachtet wurde. Die Michaeliskonstante (K_m) und die Geschwindigkeit der Morphindemethylierung (V) wurden aus den reziproken Werten, die in Abbildung 3 gezeigt sind, bestimmt. Als Ergebnis kann festgehalten werden, daß bei $K_m = 2$ mM Morphin die Umsetzungs- (Demethylierungs-) geschwindigkeit $V = 1,15$ Mikromol Formaldehyd pro 2 Std. und pro 200 mg Gewebe.

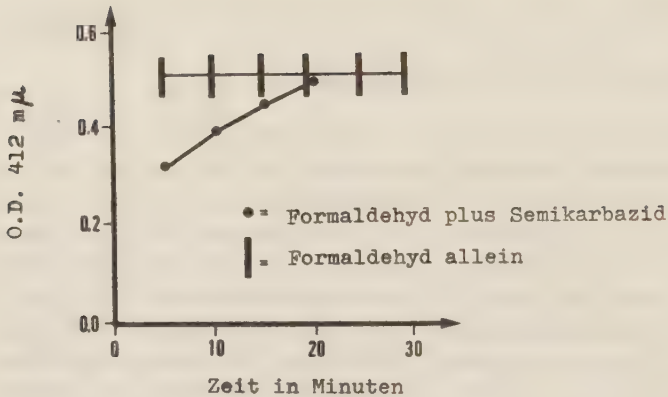


Abb. 1: Kolorimetrische Bestimmung des in Gegenwart von Semikarbazid gebildeten Formaldehyds. Bruttetemperatur: 60 Grad C (nach Franklin 1965).

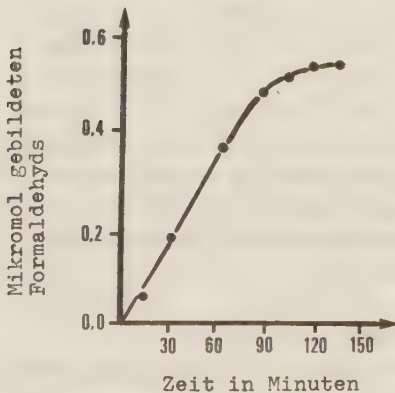


Abb. 2: Höhe der Morphindemethylierung. Bedingungen wie oben beschrieben (nach Franklin 1965).

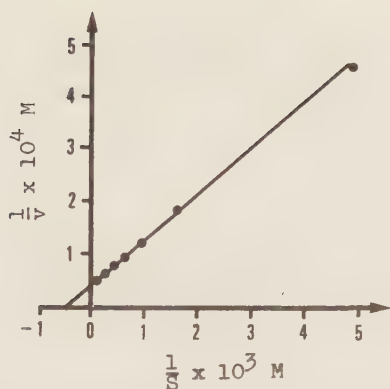


Abb. 3: Wirkung der Substratkonzentration auf die Morphindemethylierung. Bedingungen wie oben.
S = Substratkonzentration: 0,5 - 20 mM;
V = in 2 Std. gebildeter Formaldehyd (nach Franklin 1965).

In diesem Rahmen wurden nicht nur mit Morphin und seinen Derivaten N-Demethylierungs - Versuche angestellt, sondern auch mit anderen N-Methyl-Verbindungen. Die Versuchsergebnisse sind sehr interessant und seien der Vollständigkeit halber in Tabelle 1 angegeben. Das herausragendste Ergebnis ist wohl, daß die Lebermikrosomen - Enzyme nur in der Lage sind, körperfremde N - Methyl - Verbindungen, nicht jedoch die natürlich im Gewebe vorkommenden, zu demethylieren.

Tabelle 1:

Substrat (2 mM)	Gebildeter Formaldehyd (Mikromol)
Morphin	0,54
Atrophin	0,33
Aminopyrin.	0,38
Ephedrin *	0,00
Lyserg Säure	0,24
Eserin	0,17
Coffein	0,11
Streptomycin	0,52
6-Amino-N-Methylnikotinamid	0,09
N - Methylnikotinamid	0,00
N - Methylglycin	0,00
Betain	0,00
N - Methylguanidin	0,00
Kreatin	0,00
Methylamin	0,00

* Ephedrin wird von Kaninchen aktiv demethyliert,
jedoch nicht von Ratten.

Viele verschiedene N - Methyl - Produkte werden also durch die Lebermikrosomen demethyliert. Das System der N - Demethylasen ist offenbar relativ unspezifisch für körperfremde, exogene apolare Produkte. Auffallend ist, daß endogene, körpereigene Produkte keine N - Demethylierung erfahren. Die Affinität zwischen Substrat und Enzym jedoch scheint weitgehend zu variieren. Schließlich erhebt sich noch die Frage, ob es eine - relativ unspezifische N - Demethylase in den Lebermikrosomen gibt, oder ein System von vielen verschiedenen - relativ spezifischen - N - Demethylasen existiert. Die Antwort darauf ist noch ungeklärt, da die Reingewinnung der Enzyme mit erheblichen Schwierigkeiten verbunden ist. (Franklin, 1965)

Art- und Geschlechtsabhängigkeit der N - Demethylierung

Unter den in - vitro - Versuchen, die zur Frage der N - Demethylierung von Morphin und seinen Derivaten gemacht wurden, erscheinen auch Studien von Castro und Gillette (1967) interessant. Es wurde nämlich die N - Demethylierung am Beispiel von Äthylmorphin (Dionin) in Abhängigkeit vom Geschlecht und der Tiergattung untersucht. Es war schon längere Zeit bekannt, daß die Lebermikrosomen männlicher Ratten aktiver sind bei der Oxidation von Medikamenten und Geschlechtshormonen, als diejenigen der weiblichen Tiere. Neuere Erkenntnisse zeigen, daß es markante Geschlechtsunterschiede in der Michaeliskonstanten und der $V_{\max}$ für den Stoffwechsel von Hexobarbital und die N - Demethylierung von Äthylmorphin durch die Enzyme der Lebermikrosomen von Sprague - Dawley - Ratten gibt. Weibliche Tiere haben höhere Werte für K_m und niedrigere Werte für $V_{\max}$ als männliche (siehe Tabelle 2). Es kann geschlos-

sen werden, daß die Geschlechtsunterschiede bei den K_m - Werten nicht durch die Gegenwart eines endogenen Aktivators oder kompetitiven Hemmstoffes verursacht werden, weil die K_m -Werte auch dann unverändert blieben, als lösliche Fraktion des Leberpräparates zugegeben wurde, und zwar löslich Fraktion von Präparaten beider Geschlechter.

Methode der Versuchsdurchführung:

Es wurden durchweg wohlgenährte Tiere verwandt von folgenden Gattungen: Ratte (200 - 220 g), Mäuse (25 - 28 g), Meerschweinchen (360 - 400 g), Kaninchen (2200 - 2700 g), Affen (2200 - 2700 g).

Enzympräparation:

Leber wurde homogenisiert, anschließend zentrifugiert bei 9000 g 20 Minuten lang. Die oben schwimmende Fraktion wurde erneut zentrifugiert: 1 Std. lang bei 78000 g. Die Mikrosomenfraktion wurde in einer eiskalten Pufferlösung pH 7,4 aufbewahrt bis zum Versuch.

Bebrütung:

Die Brutmischung enthielt: 50 mM Tris Puffer pH 7,4, $MgCl_2$ 5 mM, 8 mM Natriumisozytrat, 0,33 mM NADP, 0,36 Einheiten isozitrische Säuredehydrogenasen pro ml, 2 mg pro ml Protein der Mikrosomen und Substrat in verschiedenen Mengen. Es wurde auch Nikotinamid beigefügt, da dieses den Stoffwechsel verschiedener Medikamente kompetitiv hemmt; die Mischung wurde 10 Minuten lang bei 37 Grad C bebrütet. Die N-Demethylierung von Äthylmorphin wurde durch entstehenden Formaldehyd nach einer Methode von Nash gemessen. Die V_{max} und K_m - Werte wurden mit einem Computer - Programm berechnet.

Ergebnisse:

Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 2 festgehalten.

Tabelle 2

<u>Art</u>	<u>Geschlecht</u>	<u>K_m (mM)</u>	<u>V_{max}</u>
Ratte	männlich	0,30	203
	weiblich	0,79	42
Maus	männlich	0,53	139
	weiblich	1,10	258
Meerschweinchen	männlich	1,07	67
	weiblich	0,96	59
Kaninchen	männlich	1,36	55
	weiblich	1,39	64
Affe	männlich	0,86	93
	weiblich	0,83	106

Alle Versuche wurden mit mindestens 8 Tieren ausgeführt, außer bei Affen, wo es nur 5 Tiere waren.

V_{max} ist gemessen in Millimikromol Formaldehyd gebildet pro Milligramm Mikrosomenprotein (in 10 Minuten bei 37 Grad C).

Die Tabelle zeigt, daß es markante Geschlechtsunterschiede der kinetischen Konstanten für die N-Demethylierung von Äthylmorphin bei Ratten und Mäusen gibt, nicht jedoch bei Meerschweinchen, Kaninchen und Affen. Die Ergebnisse für Mäuse sind besonders interessant, weil verschiedene Autoren es versäumt haben, Geschlechtsunterschiede im Medikamentenstoffwechsel zu beachten. Man kann dieses Versäumnis teilweise damit entschuldi-

gen, daß ja nicht bei allen Gattungen Geschlechtsunterschiede vorkommen. Auch treten Geschlechtsunterschiede erst bei hohen Konzentrationen auf, wie sie *in vivo* kaum vorkommen. Die Abhängigkeit des Verhältnisses $V(\text{männl.}) : V(\text{weibl.})$ von der Substratkonzentration zeigt Abbildung 4. Die Tatsache, daß bei Meerschweinchen, Kaninchen und Affen keine signifikanten Geschlechtsunterschiede bei den Werten für K_m und $V_{\max}$ auftreten, steht im Einklang mit dem Fehlen von Geschlechtsunterschieden in der Dauer der Hexobarbital - Aktivität bei diesen Gattungen. Die Werte für Affen sind allerdings nicht unbedingt verbindlich zu nehmen, da die Versuchstiere noch recht jung waren und sich deutliche Geschlechtsunterschiede vielleicht erst noch ausbilden können.
(Castro 1967)

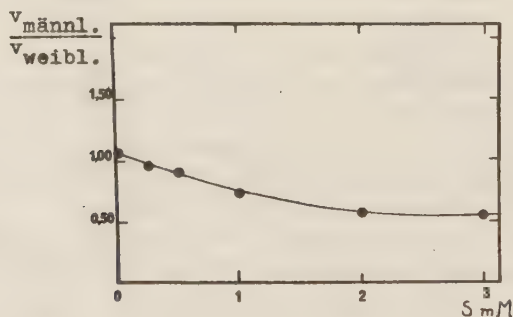


Abb. 4: Wirkung der Substratkonzentration auf das Verhältnis $V(\text{männl.}) : V(\text{weibl.})$ für Mäuse. Die Meßpunkte wurden erhalten durch Vorgeben der Werte für S und Verwendung von K_m und $V_{\max}$ aus dem Versuch für Mäuse (nach Castro 1967).

b) in - vivo - Versuche zur N - Desalkylierung

Bei in - vivo - Versuchen ist zu beachten, daß fast immer nur der erste Teil der Versuche - das Vorbereiten der Versuchstiere für die Untersuchungen - als "in - vivo" angesprochen werden kann. Der weitere Verlauf der Experimente spielt sich dann meist "in - vitro" ab, da nur so genaueste Ergebnisse erhalten werden können. Man erkannte, daß die Messungen, die man auf diese Weise erhielt, wesentlich besser mit Erfahrungswerten in Einklang gebracht werden konnten, als reine in - vivo - Messungen, die mit zu vielen Abweichungen und Fehlern behaftet sind, welche ihre Ursache wahrscheinlich zum großen Teil in der individuellen Veranlagung der einzelnen Versuchsobjekte haben.

Anknüpfend an die oben erwähnte Abhängigkeit der K_m - und V_{max} - Werte vom Geschlecht der Tiere, soll hier noch einmal auf Geschlechtsunterschiede bei der N - Demethylierung - speziell bei Ratten (Sprague-Dawley) hingewiesen werden. Außerdem wird nach den Ursachen der Unterschiede gesucht. Als N - Methylverbindung wird Äthylmorphin als Beispiel gewählt.

Versuchsbeschreibung:

Es wurden Sprague-Dawley-Ratten verwandt. Die Tiere waren etwa 60 Tage alt. Das Gewicht der männlichen Ratten betrug 180 g, das der weiblichen 160 g. Außerdem wurden Versuche mit unreifen Tieren angestellt. Ihr Alter war 21 Tage, ihr Gewicht ca. 50 g. Schließlich benötigte man zu diesen Experimenten noch Scheinkastrierte und kastrierte Ratten. Die Messungen nach

der Vorbehandlung (siehe unten) wurden an Mikrosomenpräparaten durchgeführt, die ähnlich hergestellt wurden wie oben erwähnt.

Allgemein wird angenommen, daß die Produktion von Androgenen der dominierende Faktor für die verschiedene Geschwindigkeit beim Ablauf von Stoffwechselvorgängen bei Tieren verschiedenen Geschlechtes ist, dadurch Kastration die Stoffwechselsysteme für Medikamente bei männlichen Tieren beeinträchtigt werden, während sie bei weiblichen Tieren nicht signifikant verändert werden. Darüber hinaus kann der Stoffwechsel gesteigert werden durch Behandlung mit Testosteron und anderen anabolischen Steroiden. Im Gegensatz dazu wird er gebremst durch Vorbehandlung männlicher Ratten mit Östradiol.

Davies beschrieb, daß Geschlechtsunterschiede bei der N - Demethylierung von Äthylmorphin durch die Lebermikrosomen der Ratte nicht nur Einfluß haben auf die Menge des Enzyms (gemessen als $V_{\max}$), sondern auch auf Unterschiede in der Affinität des Enzyms zu Äthylmorphin (gemessen als K_m). Als erstes erscheint es möglich, daß die Unterschiede bei den K_m - Werten auf endogene Aktivatoren oder Inhibitoren zurückzuführen ist; so hemmt eine Vorbehandlung mit SKF 525 A die Demethylierung kompetitiv und bewirkt so eine Verringerung der K_m - Werte. Es konnten jedoch keine reversibel gebundenen Hemm- oder Aktivierungsstoffe in den Leberpräparaten nachgewiesen werden. Die Entdeckung, daß die Behandlung von Lebermikrosomen männlicher oder weiblicher Ratten mit der löslichen Fraktion beider Geschlechter die K_m - Werte nicht verändert, läßt nicht nur darauf schließen, daß die lösliche Fraktion keine nennenswerten Mengen reversibel gebundener Wirk-

stoffe enthält, sondern auch, daß die Proteine der löslichen Fraktion nicht in der Lage sind, die Wirkstoffe von den Lebermikrosomen zu verdrängen. Auch andere Behandlungen wurden mit den Lebermikrosomen durchgeführt, die in der Lage sind, eine Menge von fest gebundenen Substanzen von den Lebermikrosomen wegzunehmen, jedoch ohne Erfolg. Der Schluß, daß kein spezifisch an das aktive Zentrum der Mikrosomenenzyme gebundener Wirkstoff vorhanden ist, liegt nahe.

Bei unreifen Tieren, denen kein Unterschied in den K_m - Werten anhaftete, wurde Kastration vorgenommen. Dadurch wurde bei beiden Geschlechtern keine Änderung für die K_m - Werte bei der N - Demethylase beobachtet, wogegen die V_{max} - Werte bei den männlichen Tieren um 50 % abnahmen. Auch die Vorbehandlung männlicher Tiere mit Östradiol hatte die gleiche Wirkung. So müßten also die Geschlechtshormone offenbar die maximale Geschwindigkeit, nicht jedoch die Michaeliskonstante von geschlechtsabhängigen Enzymen in den Lebermikrosomen der Ratte kontrollieren.

Diese Ergebnisse schließen die Möglichkeit nicht aus, daß die Geschlechtsunterschiede Aktivatoren oder Inhibitoren zur Folge haben, die irreversibel an die Lebermikrosomen der männlichen oder weiblichen Ratte gebunden sind. Es ist jedoch einleuchtend, daß die Gegenwart eines Hemmstoffes, der irreversibel an das aktive Zentrum eines Enzyms gebunden ist, das mit Äthylmorphin besetzt ist, nicht die Geschlechtsunterschiede der K_m - Werte ausmachen kann, da die Anwesenheit eines so gearteten Hemmstoffes sich als Abnahme der V_{max} - Werte manifestieren würde. Eine Änderung der K_m - Werte würde nicht erfolgen. - Eine andere Möglichkeit wäre die, daß Substanzen irreversibel

an andere Zentren als das aktive gebunden sind. Diese Substanzen könnten dann die Eigenschaften des Enzyms verändern. Der Geschlechtsunterschied hätte so allosterische Unterschiede in der Struktur des Enzymsystems zur Umwandlung von Drogen zur Folge, jedoch ist die Wahrscheinlichkeit für diese Ansicht recht gering.

(Davies 1968)

Abhängigkeit der N - Desalkylierung von der Ernährung

Von vielen Faktoren ist die quantitative und auch qualitative Ausbeute bei der N - Demethylierung abhängig. Geschlechtsunterschiede, verschiedene Medikamente und äußere Einflüsse (siehe unten) und ganz bestimmte Ernährungs - "Fahrpläne" können die Reaktion hemmen oder stimulieren. In einem Bericht von George und Tephly (1968) wird u. a. die Wirkung des Fastens auf die N - Demethylierung bei Ratten untersucht. Als Morphin - Analoges wurde auch hier wieder Äthylmorphin verwandt.

Versuchsbeschreibung:

Es wurden durchweg Holtzman - Ratten verwandt. Die männlichen Tiere (Gewicht 200 - 210 g) wurden nach einer Vorlage von Potter (1966) folgendermaßen gefüttert: 12 Stunden lang Fütterung, 36 Stunden fasten. Eine Periode dauerte somit 48 Stunden; das gesamte Experiment wurde 28 Tage lang durchgeführt. Wasser stand nach Belieben zur Verfügung. Die Tiere wurden 36 Stunden nach der letzten Fütterungsperiode getötet, die Leber schnell exzidiert und ein Lebermikrosomenpräparat hergestellt. Die Präparation erfolgte auf ähnliche Weise wie oben mehrfach beschrieben.

Bestimmung des Medikamentenstoffwechsels

Die N - Desalkylierung von Äthylmorphin wurde in Brutmischungen durchgeführt, wie sie von Rubin (1964) angegeben werden, mit der Änderung, daß Nikotinamid beigegeben wurde und der Formaldehyd nach einer Methode von Nash (1953) gemessen wurde. Insbesondere wird bei diesem Bericht auf das Cytochrom P - 450 eingegangen. Dieses Cytochrom P - 450 wurde postuliert als spezielles Hämoprotein, das einen Sauerstoff - aktivierenden Faktor innerhalb der Lebermikrosomen repräsentiert und als letzte Oxidase für verschiedene Medikamente, Steroide und Carcinogene wirkt.

Ergebnis

Durch die beschriebene Fütterungsmethode wird eine Enzymsynthese bewirkt. Abbildung 5 zeigt Ergebnisse von Lebermikrosomen, die von Ratten erhalten wurden, welche nach oben beschriebenen Vorschriften gefüttert wurden. Man kann daraus ersehen, wie sehr die Oxidation von Äthylmorphin stimuliert wurde durch regelmäßiges Fasten.

Abb. 5: Oxidation von Äthylmorphin bei regelmäßig fastenden Ratten. FA = behandelte Ratten, C = normal gefütterte Tiere.
P - 450 - Werte gemessen in $OD_{450-490}/mg$ Protein pro ml.

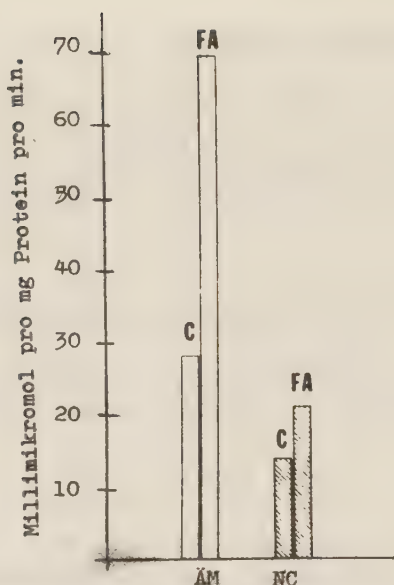


Abb. 5

Es ist interessant, daß die Werte für Cytochrom P-450 nicht signifikant verschieden sind. Diese Ergebnisse zeigen, daß bewußte Manipulationen große Unterschiede bei der Oxidation von Medikamenten bewirken können. Weiter ergibt sich aus den Versuchen, daß offenbar keine Beziehung zwischen dem P-450 - Gehalt und der Medikamenten - Oxidation durch die Enzyme der Lebermikrosomen bei diesen Präparaten besteht. Diese Ergebnisse unterscheiden sich von denen, die von Lebermikrosomen von Ratten erhalten wurden, welche 72 Stunden fasten mußten. Bei diesen Experimenten wurden keine Unterschiede festgestellt zwischen der Rate der Äthylmorphin - Oxidation ad libitum gefütterter Tiere und behandelter Ratten.

(George 1968)

Zusammenfassend kann man zu diesen Versuchen der

N - Desalkylierung sagen, daß keine grundlegenden Unterschiede zwischen "in vivo" und "in vitro" Ergebnissen auftraten. Reine in - vivo - Versuche sind in der neueren Zeit überhaupt nicht zu finden, da die besten Ergebnisse offenbar aus kombinierten Experimenten erhalten werden.

c) Hemmung und Stimulierung der N - Desalkylierung

Wie aus dem Vorhergegangenen zu entnehmen ist, stellt die N - Desalkylierung von Morphin und seinen Derivaten einen sehr entscheidenden Schritt beim Abbau dieser Mittel dar. Aus diesem Grunde ist es von Interesse, wie dieser Stoffwechselschritt gehemmt und gefördert werden kann. Hier sei zunächst auf die Hemmung der N - Desalkylierung eingegangen.

Hemmung der N - Desalkylierung

Zurückkommend auf einen Bericht von George (1968) (siehe oben) über die N - und O - Desalkylierung von Morphinanalogen durch die Lebermikrosomen - Enzyme von Holtzman - Ratten, seien einige Versuche, die mit den Mikrosomenpräparaten zur Hemmung der N - Desalkylierung durchgeführt wurden, angeführt.

Die Experimente wurden in Gegenwart von Kohlenmonoxyd durchgeführt. CO wurde bereits früher als Hemmstoff verschiedener Oxidationsreaktionen bei Medikamenten gezeigt. Es verbindet sich mit dem Cytochrom P-450, und diese Bindung erfolgt kompetitiv mit Sauerstoff. Abbildung 6 zeigt die Wirkung von Kohlenmonoxyd auf die N - Desalkylierung von Äthylmorphin in den Lebermikrosomen der Ratte. Es zeigt sich, daß die

Reaktion stark gehemmt wird. Die I_{50} - Werte liegen bei 31 %, d. h. bei 31 % atmosphärischem CO - Anteil wurde die Reaktion um 50 % gehemmt.

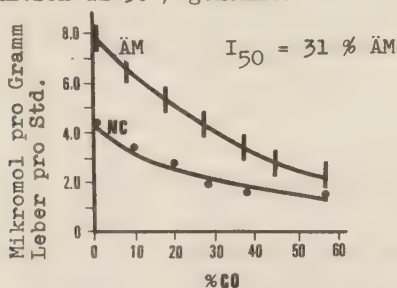


Abb. 6: Wirkung von Kohlenmonoxid auf die Oxidation von Äthylmorphin. Die Experimente wurden ausgeführt bei 20 % O_2 und verschiedenen CO - und N_2 - Konzentrationen (nur ÄM = Äthylmorphin beachten!) (nach George 1968).

Die Hemmung durch CO kann rückgängig gemacht werden durch Licht. Bei Verwendung von weißem Licht aus einer 1000 - W - Lampe konnte die Hemmung weitgehend aufgehoben werden. Den geringsten Effekt zeigte Licht von 450 nm (siehe Abbildung 7).

Als nächster Hemmstoff wurde Hexobarbital untersucht. Rubin (1964) zeigte, daß Hexobarbital die Oxidation von Äthylmorphin in den Lebermikrosomen der Ratte kompetitiv hemmt.

Zwei längere Zeit bekannte Antagonisten von Morphin wurden auf ihre hemmende Wirkung von Franklin (1965) untersucht: Levallorphan und Nalorphan. Axelrod und Cochin (1957) zeigten, daß die Hemmung nicht kompetitiv ist. Die Ergebnisse der Untersuchung von Levallorphan und Nalorphan auf ihre inhibitorische Wirkung bei der N-Demethylierung von Morphin zeigt Tabelle 3.

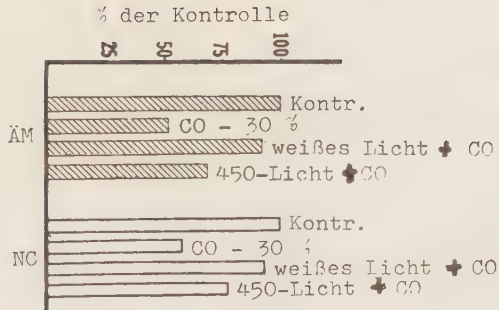


Abb. 7: Wirkung von Licht auf die Hemmung durch CO der Oxidation von Äthylmorphin. Versuche ausgeführt unter 50 % N_2 , 20 % O_2 , 30 % CO . Die Kontrollreaktion wurde im Dunkeln durchgeführt (nach George 1968).

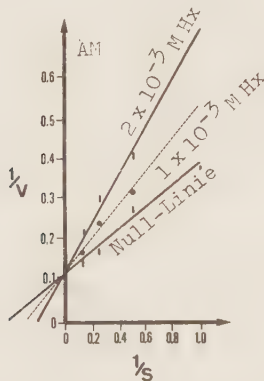


Abb. 8: Wirkung von Hexobarbital auf die Oxidation von Äthylmorphin. S = Molarität $\times 10^{-4}$; v = Geschwindigkeit bei gegebener Substratkonzentration in Mikromol gebildeten Formaldehyds pro Gramm Leber pro Stunde. Hx = Hexobarbital.
(Nach George 1968)

Tabelle 3:

Beigefügter Hemmstoff	Konz. (mM)	% Hemmung
Nalorphin	0,5	57
Nalorphin	0,25	46
Nalorphin	0,10	21
Levallorphan	0,5	85

Die Wirkung von Medikamentengabe in vivo auf Morphin-Demethylierung in vitro

Morphin-Sulfat wurde männlichen Tieren (Ratten) intraperitoneal injiziert während einer Dauer von zehn Tagen und zwar zweimal täglich. Die anfängliche Dosis von 2 mg pro g Körpergewicht wurde fortwährend ansteigend auf 25 mg pro 100 g Körpergewicht erhöht. Kontrolltiere erhielten während dieser Zeit äquivalente Volumina 0,85 %-ige Kochsalzlösung. Die Tiere wurden täglich gewogen und 24 Stunden nach der letzten Injektion getötet. Die mit Morphin behandelten Tiere verloren rapide an Gewicht im Gegensatz zu den Kontrolltieren (Abb. 9).

Man fand in diesem Zusammenhang, daß Morphingaben eine bedeutende Verminderung des Morphin-Demethylierungsrate bewirkt. Die Rate, die von behandelten Tieren erhalten wurde, betrug weniger als 10 % der Normalwerte (Abb. 10). Durch Morphin-Vorbehandlung wird jedoch nicht nur die Demethylierung von Morphin selbst gehemmt, sondern z. B. auch die von Atropin.

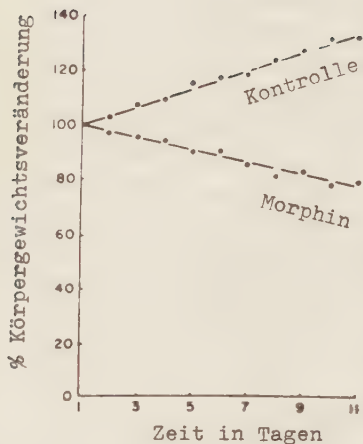
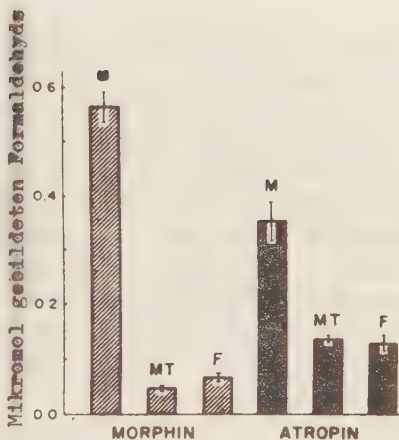


Abb. 9: Die Wirkung von Morphingabe auf das Körpergewicht männlicher Ratten. Bedingungen wie oben geschildert.



M:normal männl. MT:männlich, 10 Tage mit Morphin
F:normal weibl.

Abb. 10: Demethylierung von Morphin und Atropin durch verschiedene Lebermikrosomenpräparate von Ratten. Bedingungen wie oben. Durchschnittswerte von 6-9 Tieren.

(Nach Franklin 1965)

In diesem Zusammenhang wird auch wieder auf Geschlechtsunterschiede aufmerksam gemacht. Die Demethylierungsrate weiblicher Ratten betrug nur etwa 10 % der der männlichen nach erfolgter Behandlung mit Morphin.

Cortison - Gabe in vivo - Morphin - Demethylierung in vitro

Die Gabe von Cortison erhöht bekanntlich die Enzymwirkung, z. B. bei Tryptophan - Peroxidase, Kantin-

Oxidase, Transaminasen, Glukose-6-Phosphatase. Es sollte nun auch die Wirkung von Cortison auf die Demethylierung von Morphin untersucht werden. Als Vergleichssubstanz zur Morphin-Demethylase wurde Glukose-6-Phosphatase herangezogen, da die Wirkung von Cortison auf dieses Enzym schon bekannt war. Männliche Tiere erhielten fünf Tage lang täglich intramuskulär 25 mg pro 100 g Körpergewicht Cortisonazetat injiziert und wurden 24 Stunden nach der letzten Injektion getötet. Die Leber von behandelten und normalen Tieren wurden präpariert und gleichzeitig auf die Aktivität der Morphin-Demethylase untersucht. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 4. Während die Aktivität der Glukose-6-Phosphatase um ca. 50% erhöht wurde, sank die Aktivität der Morphin-Demethylase um 53 %.

Tabelle 4:

Behandlung in vivo	Aktivität der Glukose-6-Phos- phatase *	Aktivität der Morphin- Demethylase **
Cortison, 5 Tage	Kontrolltiere 441	0,57
	Behandelte Tiere 670	0,27
Cortison, 10 Tage	Kontrolltiere 420	0,46
	Behandelte Tiere 464	0,05

* (Mikrogramm P_1 /100 mg Leber pro 15 Minuten)

** (Mikromol HCHO/2 Std. pro 200 mg Leber)

Die Leber von Tieren, die zehn Tage lang mit ansteigenden Dosen Cortison behandelt wurden, zeigten eine signifikante Verringerung der Demethylierungsrate, während bei der Aktivität der Glukose-6-Phosphatase

nur ein geringes Ansteigen zu beobachten war.

Die Wirkung von Cortison auf die Demethylierung von Morphin wurde auch in Versuchen erforscht (die Versuchsanordnung war dabei die gleiche wie oben), und die 3, 6 und 9 Tage lang dauerten. Alle Tiere wurden täglich gewogen, der Nahrungsverbrauch bestimmt. Die Ergebnisse aus diesen Versuchen zeigen die Abbildungen 11 und 12. Der Abfall der Morphin-Demethylierung betrug im Vergleich zu den Kontrolltieren nach 3, 6 und 9 Tagen 34 %, 77 % und 65 % (die Zeitangaben beziehen sich auf die Zeit nach der Behandlung!).

Die mit Cortison behandelten Tiere verloren schnell an Gewicht. Die durchschnittliche tägliche Nahrungsaufnahme betrug 24 g pro Tier - im Gegensatz zu 16 - 18 g pro Tag bei den mit Cortison behandelten Tieren (Franklin 1965).

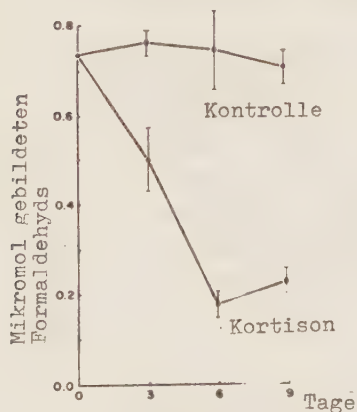


Abb. 11: Wirkung von Cortison bei männlichen Ratten auf die Demethylierung von Morphin. Bedingungen wie oben beschrieben. Durchschnittswerte von 7 - 8 Messungen.

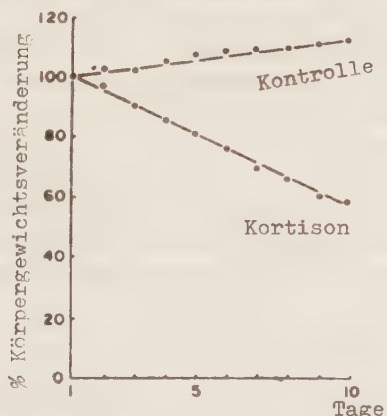


Abb. 12: Wirkung von Cortison auf das Körpergewicht männlicher Ratten. Bedingungen wie oben beschrieben.

(Nach Franklin 1965)

Mit der Hemmung der N-Demethylierung von Morphin-Analogen durch Steroide befaßt sich ein Artikel von Tephly (1968).

Versuchsbeschreibung:

Es wurden Holtzman-Ratten männlichen Geschlechts verwandt. Gewicht 200-250 g. Präparate wurden hergestellt von Lebermikrosomen und löslicher Fraktion (9000 g) wie früher schon berichtet. Ein Milliliter der Mischung enthielt ein Äquivalent von 250 mg Leber. Die komplette Mischung betrug 5 ml, wurde bebrütet in offenen 25 - ml - Erlenmeyerkolben bei 37 Grad C. Die Mischung enthielt folgende Reagenzien:

Nikotinamid (4 mM), Magnesiumchlorid (2,5 mM), NADP (0,04 mM), Glukose-6-Phosphatase (4 mM), verschiedene Mengen von Substrat, Steroid und Enzym-Präparation. Es wurde jeweils 1 mL Enzym-Präparat verwandt. Es wurden Steroide in 95 % Äthanol der Reaktionsmischung beigelegt (0,005 oder 0,01 ml). Außerdem wurden 15 mM Semicarbazid zur Freisetzung des HCHO beigegeben. Die Inkubationszeit betrug 15 Minuten.

Ergebnisse:

Die Oxidation von Äthylmorphin wurde gehemmt durch: Östradiol - 17 β , Testosteron, Androsteron, Progesteron und Hydrocortison. Keinen hemmenden Effekt zeigte Cholesterol. In allen Fällen lag kompetitive Hemmung vor! Abbildung 1 $\bar{4}$ zeigt den hemmenden Effekt

von Androsteron auf den Morphinstoffwechsel. Ähnliche Kurven werden von den anderen Steroiden erhalten.

Die Inhibitor-Konstanten der verschiedenen Steroide zeigt Tabelle 5. Gute Übereinstimmung herrscht zwischen Hexobarbital und Morphin, was die K_i -Werte betrifft und die Art der Hemmung, nämlich die kompetitive Hemmung.

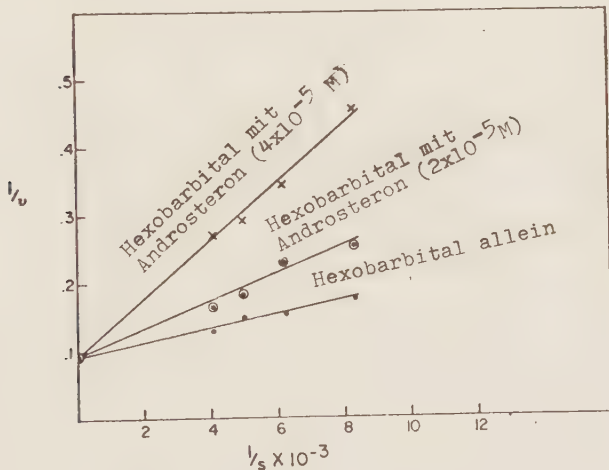


Abb. 13: Hemmung der mikrosomalen N-Demethylierung von Äthylmorphin durch Androsteron.

(v=Mikromol gebildeten Formaldehyds pro Gramm Leber pro Stunde.)

(Tephly 1968)

Tabelle 5:

Hemmstoff	Äthylmorphin N-Demethylierung $K_i \times 10^5 \text{ M}$	Oxidation von Hexobarbital $K_i \times 10^5 \text{ M}$
Östradiol -17	4,3	3,7
Testosteron	1,7	1,8
Progesteron	0,6	0,6
Androsteron	1,0	1,4
Hydrocortison	9,3	21,0
Cholesterol	---	---

Man kann daraus schließen, daß Äthylmorphin, Hexobarbital und die genannten Steroide alle als Substrat für ein gemeinsames, mehrere Funktionen umfassendes Oxidasen-System dienen. Diese Ansicht wurde unterstützt durch Forschungen von Kuntzman (1965), die untersuchten, ob die Michaeliskonstanten K_m übereinstimmen mit den entsprechenden K_i - Werten für die einzelnen Steroide. Wenn dies der Fall ist, wäre das ein Argument für oben genannten Schluß. Die Ergebnisse waren:

K_m für Östradiol-17	:	$4,9 \times 10^{-5} \text{ M}$
Testosteron	:	$2,6 \times 10^{-5} \text{ M}$
Progesteron	:	$1,6 \times 10^{-5} \text{ M}$

Vergleicht man diese Werte mit den entsprechenden Werten von Tabelle 5, so kann man recht gute Übereinstimmung feststellen. Das Konzept wäre also dies: Die membrangebundenen Enzyme des Medikamentenstoffwechselsystems in den Lebermikrosomen verhalten sich als Komplex, in dem die verschiedenen in das System einbezogenen Proteine zusammenwirken als Einheit von integrierter enzymatischer Aktivität, wie sie auch schon bekannt ist für die Elektronenübertragung der Mitochondrien (MacLennan, Tzagoloff, McConnell 1967). Die NADPH - Cytochrom c - Reduktase und Cytochrom P-450 wurden in die Kette der Elektronenübertragung

mit eingegliedert und führten zum Medikamenten- und Steroid-Stoffwechsel. Die Frage, ob ein einzelner Enzymkomplex, der ein aktiv hydroxylierendes Radikal erzeugen kann, mit in den Medikamentenstoffwechsel eingeschlossen ist, oder ob der hydroxylierende Radikal zu verschiedenen Drogen geleitet wird, durch die Aktivität mehrerer Hydroxylasen mit begrenzter Spezifität hindurch, ist ein Gegenstand, der zu Spekulationen Anlaß gibt.

Da die Steroide den Medikamenten-Stoffwechsel der Mikrosomen kompetitiv hemmen und, wie früher gezeigt wurde, strukturell nicht verwandte Medikamente gegenseitig ihren Stoffwechsel hemmen können, liegt der Schluß nahe, daß ein gemeinsames Enzymsystem existiert, welches eine außergewöhnliche Unspezifität aufweist. - Das muß jedoch nicht so sein: wenn man nämlich annimmt, daß Cytochrom P-450 an eine Reihe von Enzymen gebunden ist, die in den Medikamenten-Stoffwechsel eingreifen, wenn man weiter annimmt, daß P-450 die Umsatzrate bestimmen kann, dann kann man - unter der Annahme mehrerer Enzymssysteme - folgern, daß Drogen, die zu ihrem Stoffwechsel P-450 benötigen, einander kompetitiv hemmen können, auch wenn sie strukturell verschiedenartig sind. Dies kann sehr gut der Fall sein, denn es gibt bedeutende Beweise dafür, daß das Enzymssystem, welches Äthylmorphin oxidiert, nicht identisch ist mit dem, welches z.B. Acetanilid, und Zoxazolamin oxidiert. Diese beiden Stoffe hemmen jedoch kompetitiv die N-Demethylierung von Äthylmorphin. Dies ist durchaus vereinbar, da zwei verschiedene Enzymssysteme sich eine gemeinsame Komponente teilen können. - So muß also erwogen werden, daß die Enzymssysteme für Äthylmorphin und Hexobarbital miteinander identisch sind,

auch nicht identisch sind mit dem System, welches die Steroide oxidiert. Die Umsatzrate jedoch kann bestimmt werden von einer Komponente, die mehreren Enzymsystemen gemeinsam ist. (Tephly 1968)

Nach dieser Beschreibung von Versuchen zur Hemmung der N-Desalkylierung von Morphin und seinen Derivaten und der Beschreibung einiger Theorien zum Mechanismus der Hemmung soll nun auch auf Faktoren eingegangen werden, welche die N-Desalkylierung des Morphins und seiner Analogen stimulieren.

Stimulierung der N-Desalkylierung

Stimulierung durch Phenobarbital

Als "klassisches" Stimulans für den Medikamenten-Stoffwechsel wurden Versuche mit Phenobarbital durchgeführt. Phenobarbital ist bekannt dafür, daß es, chronisch verabreicht, den Stoffwechsel vieler Medikamente durch das endoplasmatische Retikulum der Leberzelle stimuliert. Aus Abbildung 14 ist ersichtlich, daß Mikrosomen, die man aus Präparaten von mit Phenobarbital vorbehandelten Tieren erhalten hat, eine weit größere Menge Äthylmorphin demethylieren können, als die Mikrosomen unbehandelter Tiere. (Anmerkung: die Vorbehandlung dauerte 4 Tage. Phenobarbital wurde in vivo gegeben. Anschließend wurde ein Mikrosomen-Präparat hergestellt. Tier: Holtzman-Ratte.)

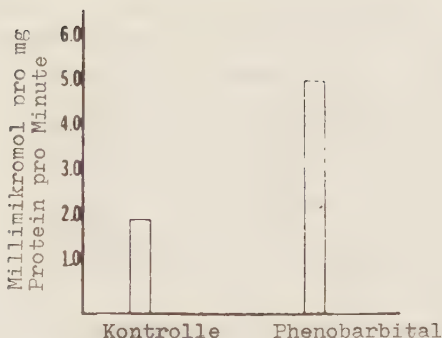


Abb. 14: Wirkung von Phenobarbital auf die Oxidation von Äthylmorphin.

Die Leber von behandelten Tieren wies außerdem einen um das 3,5 -fache gestiegenen Gehalt von Cytochrom P-450 auf (George, 1968).

Stimulierung des N-Desalkylierung durch Stress

Rupe (1963) und Bousquet (1965) demonstrierten, daß Ratten, die einseitig an der hinteren Extremität festgebunden sind, (Stress!) weniger nach Barbituralkgabe schliefen, als normale Tiere. Dies legte den Schluß nahe, Stress könne Einfluß auf den Stoffwechsel dieser Betäubungsmittel nehmen.+Es sollte weiter untersucht werden, ob nur ein physikalisches Trauma sich auswirkt, oder ob auch andere Formen des Stress zu Veränderungen im Drogenstoffwechsel führen könnten. Die Tiere wurden daher bei 4 Grad C verschiedene Zeiten lang (von 6 Stunden bis 7 Tage) gehalten und 24 Stunden nach der Rückkehr aus der Stress-Situation getötet. Die Enzyme, die an der Desalkylierung von Äthylmorphin beteiligt sind, wurden 1,2,4 und 7 Tage nach der Aussetzung der Tiere in die Kälte stimuliert.

Die Stoffwechselrate dieser Mittel stieg bis zu einem Maximum von 35% gegenüber den Ausgangswerten an, während dieser Zeitintervalle. Während der metabolische Umsatz stieg, blieb das Gewicht der Leber konstant. Man mag daraus folgern, daß erhöhte Stoffwechselrate keine erhöhte Enzymsynthese bewirkt, jedoch ist es sehr gut möglich, daß die Messmethoden in ihrer Genauigkeit nicht ausreichen, um höhere Enzymgewichte auf Grund des Lebergesamtgewichtes festzustellen.

Der Zeitverlauf und die Dauer, bis Stress anspricht, ist offenbar für jedes Medikament verschieden. Gleichzeitig mit Äthylmorphin wurde die Anilinhydroxylase - Aktivität untersucht, und man fand, daß hier schon nach 12 Stunden Kälte-Stress ein Ansteigen der Aktivität zu verzeichnen war, während bei der Morphin-Demethylase noch keine Änderung eingetreten war.

Die stress-bedingten, äußerlich sichtbaren metabolischen Änderungen sind jenen klassischen ähnlich, die nach Behandlung mit Phenobarbital beobachtet werden können.

Es ist also interessant, ob auch der Mechanismus in beiden Fällen ähnlich ist, Diese wurde von Hart und Fouts (1965) untersucht; Diese beiden Forscher beobachteten, daß eine Kombination aus Phenobarbital und Chlordan keinen größeren Anstieg der mikrosomalen Aktivität bewirkte, als jedes der beiden separat verabreicht. Daraus schlossen sie, daß beide Mittel möglicherweise ihre Stimulierung auf die gleiche Weise erzeugten. Hier wurde nun die kombinierte und separate Wirkung von Phenobarbital und Stress untersucht:

Wurden optimale Dosen von Phenobarbital und maximale Stress-Bedingungen geschaffen (4 Tage bei

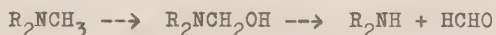
4 Grad C), so war eine Kombination wirkungsvoller als jede Behandlungsart allein (d.h. höherer Anstieg, stärkere Stimulierung). Stress ausgesetzte Tiere hatten unverändertes Lebergewicht, wogegen mit Phenobarbital behandelte Tiere oder auch kombiniert behandelte Tiere signifikante Veränderungen im Lebergewicht aufwiesen. Diese Entdeckungen zeigen, daß Phenobarbital und Stress ihre ähnliche Wirkung durch verschiedene Mechanismen erreichen. Diese Erkenntnis wird gestützt durch Untersuchungen des Ascorbinsäuregehalts der Nebenniere. Sowohl Phenobarbital als auch Kältestress bewirkten ein Ansteigen des Ascorbinsäuregehaltes. Beide Behandlungsweisen kombiniert jedoch ergaben ein höheres Ansteigen als jede Behandlung für sich.

Stress an sich kann also die Aktivität der Lebermikrosomen-Enzyme steigern. Man ist nicht auf physikalische Traumen angewiesen. Der Mechanismus der Wirkung von Phenobarbital und Stress sind verschieden; denn die Wirkung der beiden Prozeduren ist additiv. Allerdings haben Driever und Bousquet (1965) gezeigt, daß durch Actinomyzin D (hemmt offenbar Proteinsynthese) das Einsetzen der erhöhten Aktivität durch Anbinden der hinteren Extremität verhindert werden kann, so daß man am Ende zu dem Schluß kommt, daß erhöhte Protein-Synthese ein gemeinsamer Schritt sowohl bei Phenobarbital- als auch bei Stress- abhängiger Enzymtätigkeit ist. (Stritzel 1967)

d) Mechanismus der N-Desalkylierung

Die Abkömmlinge des Morphins unterliegen neben einer Vielzahl von anderen Stoffen der N-Desalkylierung. Zweifellos gibt es gemeinsame Wege und Mechanismen, welche von mehreren Stoffen beschritten werden. Das Hauptorgan für die Desalkylierung ist die Leber. Die Aktivität liegt in den Mikrosomen des endoplasmatischen Retikulums. Meist wurde die Rattenleber als Versuchsobjekt herangezogen, jedoch sollte nicht vergessen werden, daß fast alle Säugetiere unterschiedliche Aktivität der Mikrosomentätigkeit aufweisen. Die N-Alkylgruppen, die an narkotischen Verbindungen substituiert werden können, sind im wesentlichen: Methyl, Allyl und p-Äthylanilin.

Die Desalkylierungsreaktion erfordert molekularen Sauerstoff und ein System, welches NADPH_2 erzeugen kann (möglicherweise den Pentose-Phosphatcyklus). Geht man von der oben angeführten Reaktion der N-Demethylierung aus, so bereitet das hydroxylierte Zwischenprodukt einige Schwierigkeiten.



Die Bildung des hydroxylierten Zwischenproduktes kann nämlich auf zwei verschiedene Arten entstehen. Einmal durch eine direkte Hydroxylierungsreaktion, zum anderen zunächst durch N-Oxidation und anschließend eine Hydroxylierung. Die augenblicklichen Forschungen sind auf einem Stand angelangt, welcher einer direkten Hydroxylierung den Vorzug gibt. Dies wäre mit Hilfe von Hydroxylradikalen möglich, welche in der Lage sind, aktiv zu hydroxylieren. Versuche zu dieser Theorie wurden durchgeführt, allerdings nicht mit narkotischen Verbindungen. Studien mit Propoxyphen

scheinen einen weiteren Zwischenschritt, nämlich das erwähnte N-Oxid auszuschließen. McMahon und Sullivan (1964) fanden nämlich, daß bei der Demethylierung von radioaktiv gekennzeichnetem l-Propoxyphen kein l-Propoxyphen-N-Oxid entstand. Allerdings ist hier noch nicht das letzte Wort gesprochen. Ausgedehnte Forschungen zu diesem Thema werden noch nötig sein (Way, 1968).

Um die Bedeutung des oben erwähnten NADPH_2 erzeugenden Systems zu bekräftigen, sei noch ein Versuch von Franklin angeführt. Bei Experimenten zur N-Demethylierung von Morphin mit Ratten-Lebermikrosomenpräparaten wurde wie üblich die Demethylierungsrate durch den entstehenden Formaldehyd gemessen. La Du (1955) und Axelrod (1956) führten ähnliche Versuche durch und fügten ihrem Präparat 5 mM Nicotinamid bei, um die NADP-ase zu hemmen (Gesamtvolumen der Inkubationsmischung: 5 ml). Bei dieser Konzentration konnte nur eine sehr niedrige Menge des Produktes der N-Demethylierung (HCHO) beobachtet werden. Bei Erhöhung der Nicotinamid-Konzentration konnte auch ein Ansteigen der N-Demethylierungsrate und der maximale Effekt wurde bei einer Nicotinamid-Konzentration von 40 mM erreicht. Um die Möglichkeit auszuschließen, daß Nicotinamid direkt an der N-Demethylierungs-Reaktion teilnimmt, wurde Nicotinamid mit dem Mikrosomenpräparat zusammen in Abwesenheit des Substrates bebrütet. Hierbei wurde keine Bildung von Formaldehyd beobachtet. Außerdem wurde N-Methyl-Nicotinamid nicht demethyliert (Siehe Tabelle 1). Aus diesen Ergebnissen geht hervor, daß ein hoher Gehalt von NADPH_2 zur Reaktion notwendig ist. Ist dies nicht gegeben, (NADP-ase!), so findet keine Reaktion statt.

e) Pharmakologische Konsequenzen der N-Desalkylierung

Im Verlauf der vorliegenden Arbeit wurden bisher Versuche zur N-Demethylierung von Morphin und seinen Derivaten beschrieben, es wurde auch kurz hingewiesen auf den Mechanismus, nach welchem diese biochemischen Reaktionen sich abspielen könnten. Der folgende Teil befaßt sich nun mit den Folgen der N-Demethylierung, welchen pharmakologischen Einfluß sie hat, in wie weit sie bei der analgetischen Wirkung dieser Verbindungen eine Rolle spielt und in welchem Zusammenhang N-Demethylierung und Gewöhnung stehen.

Man muß bei der Betrachtung der Wirkung der N-Demethylierung von Morphin und all seiner Derivate selbstverständlich unterscheiden zwischen den einzelnen Abkömmlingen, jedoch kann man durchaus auch einige generelle Bemerkungen machen. Eine der allgemeinen Folgen der N-Demethylierung ist die Zunahme der Toxizität, besonders im Hinblick auf verstärkte Krampfstände. Miller und Anderson (1954) zeigten, daß bei intraperitonealer Gabe von Normeperidin und Normorphin bei Mäusen eine höhere Toxizität vorhanden war als bei Gaben von Meperidin und Morphin.

Adler (1963) machte genauere Angaben und berichtete, daß Normorphin etwa doppelt so toxisch sei wie Morphin und der Unterschied bei Codein noch ausgeprägter ist, Norcodein ist nämlich 6 mal toxischer als Codein. Diese Daten gelten für Mäuse bei intraventrikulärer Gabe der genannten Verbindungen. Daraus folgerte sie, daß Norcodein bei der Gabe von Codein eine Rolle spielt für die Lethalität von Codein, da bei Mäusen 29 % der gegebenen Codeindosis zu Norcodein umgewandelt werden.

Die analgetische Wirkung der N-Demethylierung untersucht ein Bericht von Fennessy (1968). Er geht stets vom Unterschied zwischen Morphin und dem Morphin-N-Oxid aus. Je nach Testsituation und verwendeter Tiergattung war Morphin 39 - 89 mal wirkungsvoller als das N-Oxid. Diese Zahlen erhielt er bei intraperitonealer Injektion gleicher Dosen der Vergleichsverbindungen. Ganz anders sahen die Zahlen bei subkutaner Verabreichung aus. Hier war Morphin nur 11 - 22 mal wirkungsvoller. Der Grund für diese Diskrepanz ist, daß die Leber Analgetika sehr schnell "zerstören" kann. So wird Morphin vermutlich von Leber und Gehirn verschiedener Arten teilweise zu Normorphin N-demethyliert. Wird Morphin intraperitoneal gegeben, so gelangt es über die Gefäße auch in das Pfortadersystem, kommt somit in die Leber, wo es teilweise "zerstört" wird. Es erreicht also nur einen mengenmäßig reduzierter Anteil voll wirksamen Morphins das Gehirn; - bei subkutaner Injektion kommt Morphin direkt ins Gehirn, ohne vorher in der Leber umgebaut zu werden.- Allerdings gab es auch Autoren (Becket, Casy und Harper 1956), welche den Morphin-Metaboliten eine wichtige Rolle bei der analgetischen Wirkung zuschreiben. Sie sind nämlich, anders als Axelrod und Cochlin (1956), der Meinung, daß diese Metaboliten quasi ein Medium darstellen, in welchem sich die analgetische Wirkung des eigentlichen Morphins erst richtig entwickeln kann.

Für die analgetische Wirkung von Morphin, bzw. Morphin-N-Oxid ist die Vorbehandlung mit Amiphenazol interessant. Amiphenazolgabe erhöht nämlich die analgetische Wirkung erheblich: entweder dadurch, daß es ein Enzym hemmt, welches die Umwandlung von Morphin-

N-Oxid zu Normorphin fördert, oder dadurch, daß die N-Oxid-Bildung nur einen kleineren Anteil der Reaktionen des Morphins ausmacht, wogegen der größere Anteil der Verbindung mit Glukuronsäure zufällt. Wird dieser größere Anteil (Verbindung mit Glukuronsäure) durch Amiphenazol (oder auch Tacrin) gehindert, so ist mehr Morphin vorhanden, welches zu Morphin-N-Oxid umgewandelt werden kann. Eine dritte Möglichkeit wäre die, daß Morphin-N-Oxid zu Morphin reduziert wird, wobei sich ein chemisches Gleichgewicht einstellen würde (Fennessy 1968).

Die Tatsache, daß die Nor-Verbindungen weniger analgetische Aktivität entwickeln, wurde auch bei Menschen erprobt. Bei zehn Menschen wurden einmalige Dosen von 30 mg Normorphin, bzw. Morphin subkutan gespritzt; In allen Fällen zeigte sich, daß bei Normorphin weniger Müdigkeit, weniger Hypothermie, weniger Atmungsdepression und weniger Miosis auftraten als bei gleichen Gaben von Morphin, (Fraser 1958).

Die vierfache Menge Normorphin wurde benötigt, um bei 60 Patienten Schmerzen zu stillen - im Vergleich zu Morphin (Lassagna, De Kornfeld 1958).

Es ließen sich noch viele Beweise für diese Dinge anführen, jedoch würde das zuweit von dem gestellten Thema abführen.

Als Drittes soll noch kurz darauf hingewiesen werden, in welcher Abhängigkeit die N-Demethylierung von Morphin und seinen Derivaten und die Gewöhnung stehen. Axelrod (1956) fand, daß chronische Gabe von Morphin zu einem Nachlassen der N-Demethylierungsfähigkeit durch die Leber führt. Dies wiederum ist verbunden mit einer zunehmenden Gewöhnung im unbe-

rührtem Tier. Umgekehrt führt ein Zurückkehren der N-Demethylierungs-Fähigkeit nach Entzug zu einer Entwöhnung von Morphin (Axelrod 1956; Axelrod und Cochin 1957).

Diese Korrelation ist jedoch nicht immer und unbedingt gegeben. Way und Adler (1962) konnten zeigen, daß es Fälle gibt, in denen sich Morphingewöhnung entwickelt, ohne daß die Fähigkeit zur N-Demethylierung nachläßt, daß bei Tieren nach dem Entzug des Mittels die Rückkehr der vollen analgetischen Wirkung weit hinter der Rückkehr der Fähigkeit zu demethylieren zurückbleibt, daß es Analgetiker gibt, bei denen in vitro keine Parallelen existieren zwischen ihrer analgetischen Wirkung und der Fähigkeit zu N-demethylieren und daß es schließlich Beispiele gibt, die zweigen - wenn auch in begrenztem Maße - daß chronische Morphinisierung bei intakten Tieren nicht zu einer nachlassenden N-Demethylierung führen (Way und Adler 1960, Way und Adler 1962).

Damit ist die Beschreibung eines äußerst wichtigen und wahrscheinlich allen Analgetika der Morphinreihe gemeinsamer Stoffwechselschritt abgeschlossen.

2. Die O-Desalkylierung

Ein weiterer wichtiger Stoffwechselschritt der Morphin-derivate ist die O-Desalkylierung. Sie kann vermutlich von allen Säugetieren durchgeführt werden. Vor allem beim Codein, welches zu Morphin O-desalkyliert wird, spielt diese Abbaureaktion eine wichtige Rolle.

Zunächst soll hier auf einige Versuche hingewiesen werden, die zur näheren Erforschung der O-Desalkylierung unternommen worden sind. Um den Zusammenhang zwischen N-Desalkylierung und O-Desalkylierung deutlich werden zu lassen, wurden unter gleichen Bedingungen Morphin N-demethyliert und Norcodein O-desalkyliert. Auch die O-Desalkylierung findet durch die Enzyme der Leber-mikrosomen statt. In den Versuchen wurden daher Leber-mikrosomen-Präparate hergestellt wie oben schon mehrmals erwähnt.

Versuchsbeschreibung:

Es wurden als Versuchstiere Holtzman-Ratten männlichen Geschlechts verwandt mit einem Gewicht von 200 - 210 g. Lebermikrosomen-Präparate wurden hergestellt und mit Substrat bebrütet. Diejenige Menge Norcodein, welche O-demethyliert wurde, wurde nach einer Methode von Stotz (1943) bestimmt durch Messung des entstehenden Acetaldehyds!

Ergebnisse:

Wie bei der N-Desalkylierung von Äthylmorphin wurde auch die O-Desalkylierung von Norcodein in Gegenwart von Kohlenmonoxyd durchgeführt und der Effekt beobachtet. Es wurde schon früher beschrieben, daß CO die

Oxidation von Medikamenten hemmen kann, indem es sich mit Cytochrom P 450 verbindet und so den Sauerstoff competitiv verdrängt. Molekularer Sauerstoff (und NADPH_2) jedoch sind für die O-Desalkylierung ebenso wichtig wie für die N-Desalkylierung. Abbildung 15 zeigt die Wirkung von CO auf die Oxidation von Äthylmorphin und Norcodein.

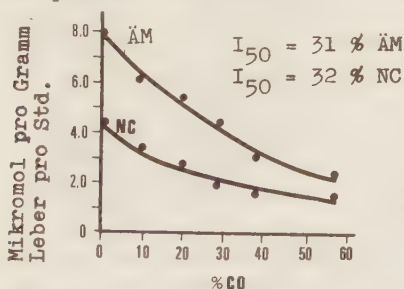


Abb. 15: Wirkung von CO auf die Oxidation von Norcodein (NC), durchbrochene Linie, und Äthylmorphin (EM), durchgezogene Linie. Die Versuche wurden durchgeführt unter 20 % O_2 -Gehalt und unterschiedlichen Konzentrationen von N_2 und CO.

Die I_{50} -Werte für Norcodein und Äthylmorphin liegen sehr nahe beisammen, sodaß daraus zu schließen ist, daß CO auf beide Stoffe etwa die gleiche Wirkung hat. Das würde mit anderen Worten bedeuten, daß beide Reaktionen Cytochrom P 450 benötigen, daß also das gleiche Hämoprotein an beiden Reaktionen beteiligt ist.

Ebenso wie bei der N-Desalkylierung von Äthylmorphin kann auch bei der O-Desalkylierung von Norcodein die hemmende Wirkung von CO rückgängig gemacht werden durch Licht. Abbildung 16 zeigt, daß in beiden Fällen weißes Licht aus einer 1000 Watt Lampe die Wir-

kung von CO am besten verhindern kann, während Licht mit einer Wellenlänge von 450nm den kleinsten Effekt zeigte (vergleiche Abb. 7).

- A = Kontrolle
B = CO - 30 %
C = weißes Licht + CO
D = 450 - Licht + CO

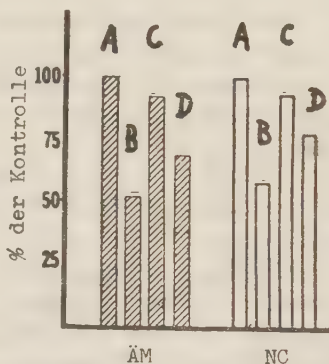


Abb. 16: Wirkung von Licht auf die Hemmung durch CO von Äthylmorphin- und Norcodein - Oxidation. Die Atmosphäre enthielt 50 % N₂, 20 % O₂ und 30 % CO. Die Kontrollreaktionen wurden im Dunkeln durchgeführt.

Wie die N-Desalkylierung von Äthylmorphin wird auch die O-Desalkylierung von Norcodein durch Hexobarbital gehemmt. Es wurde gezeigt, daß Hexobarbital die Oxidation von Äthylmorphin in den Lebermikrosomen der Ratten kompetitiv hemmt. Könnte nun gezeigt werden, daß Norcodein und Äthylmorphin die gleichen Umsatzrate-bestimmenden Schritte bei ihrem Stoffwechsel zugrunde liegen, müßte auch die O-Desalkylierung von Norcodein durch Hexobarbital kompetitiv gehemmt werden. Abbildung 18 zeigt jedoch, daß die beiden Verbindungen verschiedene Hemmungs-Kurven aufweisen. Dies zeigt an, daß verschiedene Raten-bestimmende Umstände die Oxidation dieser Substrate bestimmen, oder daß die beiden Reaktionen anderen Mechanismen unterliegen.

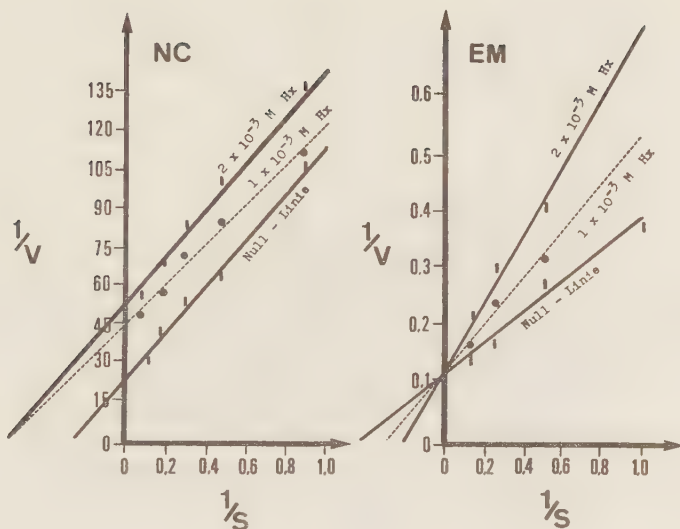


Abb. 17: Wirkung von Hexobarbital auf die Oxidation von Äthylmorphin und Norcodein. S = Molarität $\times 10^{-4}$, v = Geschwindigkeit bei gegebener Substratkonzentration in Mikromol Formaldehyd, gebildet pro Gramm Leber pro Stunde. Hexobarbital-Konzentrationen waren 1×10^{-3} Mol und 2×10^{-3} Mol.

Eine sehr interessante Beobachtung gelang 1968 George und Tephly. Bei der N-Desalkylierung von Äthylmorphin konnte ein starker stimulierender Effekt von Phenobarbital festgestellt werden. In einer Gegenüberstellung wird nun gezeigt, daß Phenobarbital auf die O-Desalkylierung von Norcodein keinen, höchstens einen leicht hemmenden Effekt hat (siehe Abbildung 18).

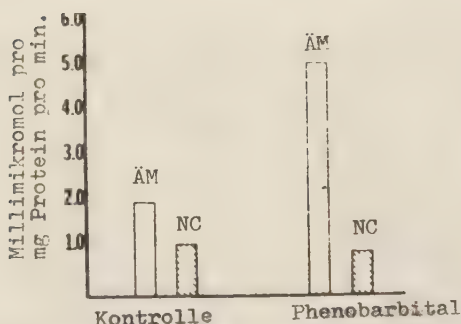


Abb. 18: Wirkung von Phenobarbital auf die Oxidation von Äthylmorphin und Norcodein. Die Kontrolltiere erhielten pro Tag intraperitoneal injiziert 40 mg/kg Körpergewicht physiologische Kochsalzlösung. Die Versuchstiere bekamen die äquivalente Menge Phenobarbital gespritzt. Versuchsdauer: 4 Tage. Tötung: 24 Stunden nach der letzten Injektion.

(Anmerkung; Die Behandlung mit Phenobarbital hat keinen Einfluß auf das Verhalten der Lebermikrosomen gegen CO-Behandlung. Die unbehandelten Tiere zeigten die gleichen Reaktionen wie mit Phenobarbital präparierte.)

In diesem Zusammenhang wurden auch die O-Desalkylierung von Äthylmorphin und Phenacetin beobachtet und wichtige Schlüsse gezogen. Die Tiere wurden mit Phenobarbital vorbehandelt. Auch bei der O-Desalkylierung von Äthylmorphin wurde kein Ansteigen gegenüber den Versuchstieren festgestellt. So erscheint es also nahelegend, daß die O-Desalkylierung von Äthylmorphin und Norcodein nach ähnlichen enzymatischen Mechanismen vor sich geht. Die O-Desalkylierung von Phenacetin jedoch wurde durch Phenobarbital stark stimuliert. Dadurch ist gezeigt, daß es mindestens zwei verschie-

dene Enzymsystemen in den Lebermikrosomen gibt, welche die O-Desalkylierung durchzuführen vermögen. Man kann weiterhin annehmen, daß die Enzymsysteme nicht nur funktions-, sondern auch substratspezifisch sind.

Schließlich wurde auch hier die Wirkung des Fastens nach einem bestimmten "Fahrplan" untersucht. Dieser Fahrplan wurde von Potter (1966) aufgestellt. Danach müssen die Tiere nach 12-stündiger Fressperiode 36 Stunden lang fasten. Versuchsdauer 28 Tage. Tötung 36 Stunden nach der letzten Fütterungsperiode. Abbildung 19 zeigt, daß die Oxidation von Äthylmorphin weitmehr stimuliert wurde, als die Oxidation von Norcodein. Die P-450-Werte waren in diesen Versuchen nicht signifikant verändert im Vergleich zu normalen Tieren.

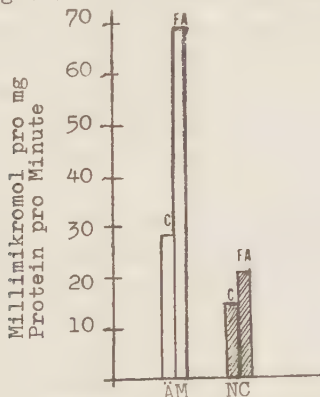


Abb. 19: Drogenoxidation in den Mikrosomen fastender Ratten. FA = fastende Tiere, C = Kontrolltiere.

(George 1968)

Nach den beschriebenen Versuchen mit Norcodein, die eine Gegenüberstellung mit Äthylmorphin-N-Demethylierung darstellten, sollten nun einige allgemeine

Bemerkungen zur O-Desalkylierung gemacht werden. Vieles von dem im Folgenden Gebrachten könnte auch unter dem Kapitel über den Stoffwechsel des Codeins stehen. Es wird aber aus dem Grund jetzt schon abgehandelt, weil in der einschlägigen Literatur über O-Desalkylierung von Morphinderivaten fast ausschließlich speziell Codein verwandt wird als Beispiel.

Im Hinblick auf die größere Wirksamkeit des Morphins gegenüber Codein stellt die pharmakologische Signifikanz von Morphin, aus Codein gewonnen (durch O-Demethylierung), einen überaus bedeutsamen Faktor dar. Way und Adler (1962) untersuchten die Zusammenhänge, kamen jedoch nicht weit. Ihr Bericht schließt mit dem Hinweis, daß verlässlichere quantitative Daten und kinetische Studien notwendig wären, wollte man Klarheit in diesem Komplex bringen. - Bis heute sind diese Informationen noch nicht gegeben, obwohl gerade durch Adlers Studien an der Maus einiges Licht in dieses Dunkel gebracht wurde.

Die Wirkung des Codeins wurde von Adler nach der sogenannten "tail-flick"-Methode untersucht. Sie verglich die Wirkung von Codein und seinen demethylierten Metaboliten. Nach intraventrikulärer Injektion bei Mäusen fand sie, daß das Absinken des "tail-flicks" (tail flick = ein Mit-dem-Schwanz-Schlagen) bei thermalen Stimulantien 100 mal stärkere Dosen von Codein als von Morphin benötigte. Da sie aber weiterhin fand, daß 24 % der Codein- $C^{14}H_3$ - Dosis als $C^{14}O_2$ in der ausgeatmeten Luft nachgewiesen werden konnte, schloss sie, daß Morphin signifikant zu den pharmakologischen Effekten des Codeins beitragen müsse.

Morphin erwies sich als doppelt so lethal wie Codein bei intralventrikulärer Injektion, sodaß Morphin wohl auch zu den toxischen Effekten des Codeins beiträgt, jedoch ist diese Wirkung des Stoffwechsels von Codein hier nicht so fordergründig; weit wichtiger ist ein anderer Schritt, nämlich die Umwandlung von Codein zu Norcodein durch N-Demethylierung (siehe Stoffwechsel des Codeins).

Way 1968)

Zusammenfassend sei zur O-Desalkylierung gesagt: Die O-Desalkylierung kann wahrscheinlich von allen bekannten Arten von Säugetieren durchgeführt werden. Die Fähigkeit zu diesem biotransformatorischen Schritt, wie auch die zur N-Demethylierung liegt begründet in einer Gruppe von oxidativen Enzymen, welche in den Stoffwechsel von O- und N- substituierten Verbindungen eingreifen. (Brodie, Gillette, La Du 1958)

All diese Enzyme wurden in der Mikrosomen - Fraktion der Leber gefunden. Allerdings wurde von Elison und Elliott (1964) aus ihren Studien über Enzymkinetik geschlossen, daß O- und N- Desalkylierung spezielle Enzymsysteme gebrauchen und beide Prozesse so zwei ganze Gruppen von verschiedenen Enzymsystemen in Anspruch nehmen.

II. Hydrolyse am Beispiel des Heroins

Die Hydrolyse stellt bei einigen Verbindungen der Morphin - Reihe einen bedeutenden Schritt dar, und zwar bei den Estern. Diese sind: Heroin, Meperidin, Anileridin, Äthoheptazin und Acetylmethadol. Im allgemeinen ist die freigesetzte Säure weniger aktiv als die ursprüngliche Verbindung. Sie wird schnell mit dem Urin ausgeschieden und unterliegt vorher noch einer Bindung. Das Heroin nimmt insofern eine Sonderstellung ein, als durch die Hydrolyse in den Geweben und Organen eine Detoxifizierung stattfindet, im Gehirn jedoch der gleiche Prozeß eine Aktivierung des Mittels bedeutet.

Die Hydrolyse soll im Folgenden am Beispiel des Heroins dargestellt werden. Der chemische Prozeß spielt sich bei den übrigen Estern (siehe oben!) sehr ähnlich ab, jedoch muß immer wieder die oben genannte Ausnahmerolle des Heroins berücksichtigt werden, wenn man die Auswirkung von Medikamentengaben auf den Organismus und das Verhalten untersucht.

Heroin wird schnell zu 6-Monoacetylmorphin (siehe E. Formelsammlung) abgebaut und anschließend von den meisten Organen - das Gehirn eingeschlossen - zu Morphin. Die Geschwindigkeit, mit der Heroin abgebaut wird, zeigt an, daß unverändertes Heroin nur geringe beruhigende pharmakologische Effekte hervorbringt und daß die Hauptursache für die spezielle Wirkung des Heroins in den Verbindungen zu suchen ist, die sich aus seinem Stoffwechsel ergeben: die Biotransformation zu Monoacetylmorphin (MAM) und weiter zu Morphin. - Morphin ist also wahrscheinlich vor allem verantwortlich für die pharmakologischen Effekte des Heroins. Die Rolle des Monoacetylmorphins ist wohl die, daß es als Carrier dient, der das Hinzutreten des Morphins

an die Rezeptoren des ZNS fördert.

Die Halbwertszeit des Heroins nach intravenöser Injektion einer fast lethalen Dosis war bei der Maus nur etwas mehr als zwei Minuten. Der Gehirnspiegel von Heroin war nach zwei Minuten noch feststellbar, nach 7,5 Minuten jedoch schon nicht mehr. Darüber hinaus konnte eine mehrfach größere Toxizität des Heroins über die des Morphins bei intravenöser oder subkutaner Injektion festgestellt werden. Injizierte man jedoch intracerebral, so lag die lethale Dosis des Heroins etwa 2 bis 3 mal so hoch wie die des Morphins. (Way, Kemp, Young, Grassetti 1960)

Neuere Ergebnisse zeigen, daß die Fähigkeit zur schnellen Hydrolysierung des Heroins ein Phänomen ist, das vielen Säugetieren gemeinsam ist. Der Stoffwechselvorgang bei der Umsetzung des Heroins ist wahrscheinlich bei allen Arten sehr ähnlich. Brutmischungen von Leber, Niere, Blut und Gehirn von Mäusen, Ratten, Kaninchen, Hunden und Menschen sind äußerst aktiv bei der Desacetylierung von Heroin an C₃ und C₆. Die C₃ - Position ist labiler. Daher findet hier die Desacetylierung zuerst statt und es entsteht Monoacetylmorphin (MAM). Jedoch auch an C₆ findet die Desacetylierung - wenn auch langsamer - noch relativ rapide statt. Auch hier ist die Leber wieder das aktivste Organ, jedoch zeigt auch das Gehirn recht starke Aktivität bei beiden Reaktionen (an C₃ und C₆). (Way, Young, Kemp 1965)

Wie schnell sich der Abbau des Heroins vollzieht, zeigt ein Versuch von Way, Young und Kemp, 1965, der mit erwachsenen Ratten angestellt wurde. Die Tiere erhielten intrapoplietal 75 mg pro kg Körpergewicht Heroin gespritzt. Die Konzentration im Gehirn betrug nach 15 Minuten 0,9 Mikrogramm pro Gramm. Nach 30 Minuten waren es 0,5 Mikro-

gramm pro Gramm und fiel nach 2 Stunden auf 1,9 Mikrogramm ab. So erschienen sowohl Heroin als auch Mono-Acethyl-Morphin nach kurzer Zeit im Gehirn, erreichten ihren Höchststand nach etwa 15 Minuten und fielen dann rapide ab. - Andererseits blieb die Morphin-Konzentration länger als 2 Stunden relativ konstant bei 1,5 Mikrogramm pro Gramm. Während dieser Zeit standen die Tiere sichtbar unter der Wirkung der Droge. Die gleiche Dosis und Art der Verabreichung von Morphin erbrachte einen Gehirnspiegel von weniger als 0,9 Mikrogramm pro Gramm.

Die Esterhydrolyse spielt auch eine große Rolle beim Stoffwechsel von Acethylmethadol und seinem Desalkylierungsprodukt - Noracdetethylmethadol. Die entsprechenden Carbinole werden in der Galle und mit den Feces nach Bindung an Glukuronsäure ausgeschieden. (Way 1968)

III. Ausscheidungsprodukte des Morphinstoffwechsels

1. Ausscheidung als reines Morphin und als Morphin - 3 - Glukuronid

Während der letzten Jahre wurden metabolische Veränderungen und die Ausscheidung im Urin bei Morphin studiert. Der Hauptmetabdit war das sog. "gebundene Morphin", was nichts anderes ist als das Morphin-Glukuronid. In-vivo-Studien basieren auf Messungen von freien und gebundenen Morphin im Urin, in den Feces und in der Galle. In-vitro-Studien gründen sich auf Untersuchungen von Lebern der behandelten Tiere. Obwohl schon seit mehr als drei Jahrzehnten eine Glukuronid-Bildung postuliert wird, ist erst um 1960 die Aufstellung eines allgemeinen Schemas der Glukuronid-Bildung gelungen. Vor kurzer Zeit neun gelang es Woods und Fujimoto und Way, das gebundene Morphin in kristalliner Form zu isolieren und zwar aus der Galle von Hunden und aus menschlichem Urin. Man fand als einziges Conjugat Morphin - 3 - Glukuronid. Auch das Vorhandensein anderer Verbindungen wurde vermutet, allerdings konnte bis dahin keines nachgewiesen werden. Yoshimura (1968) unternahm den Versuch einer in-vitro-Synthese der Morphin-Glukuronide. Er hoffte auf diese Weise neue Verbindungen des Morphins zu entdecken. Außer dem schon bekannten Morphin-3 - Glukuronid wurde schließlich auch ein Morphin - 6 - Glukuronid synthetisiert. Man erhielt es aus 3 - Acetylmorphin. Die Synthese gelang ähnlich der des Codein-Glukuronids. (siehe V 2).

Glukuronide scheinen also die einzigen Verbindun-

gen zu sein, die das Morphin auf seinem Weg durch den tierischen und menschlichen Körper bildet.

2. Einfluß exogener Glukuronsäure

Das auch exogene Glukuronsäure von tierischen Körpern zur Bindung von Morphin genutzt wird, beweist eine Versuchsreihe von Otobe (1960). Er injiziert gleichzeitig mit Morphin Glukuronide, in einem Versuch Natriumglukuronat, im zweiten Glukonolacton. Es wurde gemessen, wieviel freies und gebundenes Morphin im Urin ausgeschieden wird, nach Morphingabe allein und nach Morphin plus Natriumglukuronat bzw. plus Glukonolacton.

Versuchsbeschreibung:

Es wurden männliche Kaninchen mit einem Gewicht von $200\text{ g} \pm 50\text{ g}$ verwandt. Alle dreißig Minuten wurden die Tiere katheterisiert um eine genaue Menge des Urins zu erhalten. Zur Steigerung der Urinmenge wurde den Tieren kontinuierlich mit einer Geschwindigkeit von 2 ml/min. physiologische Kochsalzlösung in die eine Ohrvene gespritzt. Bei den Kontrolltieren war die Kochsalzlösung unverändert, bei den Versuchstieren enthielt sie außerdem noch Natriumglukuronat bzw. Glukonolacton.

In die andere Ohrvene wurde gleichzeitig Morphin gespritzt, beginnend mit 10 mg/kg bis zu 35 mg/kg ansteigend in $0,1\%$ -igen Lösungen.

Ergebnisse:

Den Einfluß von Natriumglukuronat auf die Exkretion von freiem und gebundenem Morphin zeigt Abbildung 20.

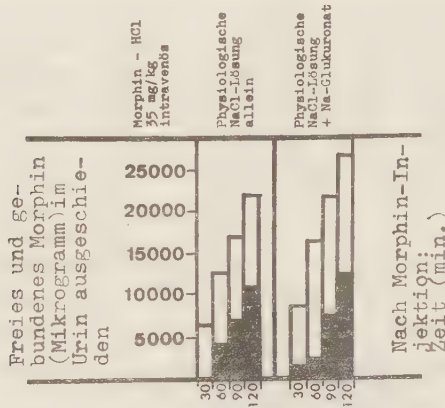


Abb. 20: Einfluß von Natriumglukuronat auf die Exkretion von freiem und gebundenem Morphin im Urin von Kaninchen. Die linken Säulen (= Messungen in den Intervallen: 30,60,90 120 Minuten) zeigen die Werte für Kontrolltiere, die rechten Säulen zeigen die Werte der Versuchstiere.

Die Tiere, die Natriumglukuronat erhalten hatten, schieden nach zwei Stunden gebundenes Morphin mehr und schneller aus. Zu beachten ist, daß auch freies Morphin nach der Behandlung mehr und schneller ausgeschieden wurde.

Die Urinmenge, die von Tieren mit Natriumglukuronat ausgeschieden wurde war 112 ml, die der anderen Tiere 205 ml, so daß das Ansteigen von freiem und gebundenem Morphin im Urin der Tiere nichts mit der Urinmenge an sich zu tun haben kann.

Die gleiche Wirkung (qualitativ) wie Natriumglukuronat hat bei diesen Versuchen auch Glukonolacton. Dieses Mittel wurde ebenso verabreicht wie oben für Natriumglukuronat beschrieben.

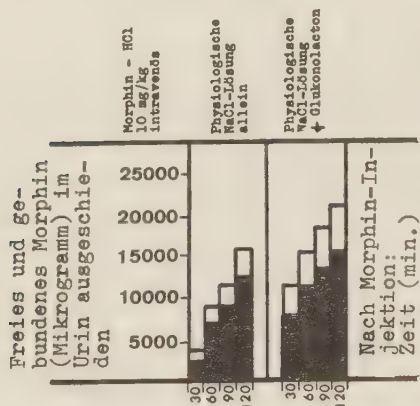


Abb. 21: Einfluß von Glukonolacton auf die Exkretion freien und gebundenen Morphins mit dem Urin.
Legende siehe Abbildung 20!

Es zeigt sich also, daß intravenöse Gabe von Natriumglukuronat oder Glukonolacton ein Ansteigen der Ausscheidung von freiem und gebundenem Morphin im Urin bewirkt. Exogene Glukuronsäure muß also auf jeden Fall für die Bindung von Morphin im tierischen Körper genutzt werden.

(Oto 1960)

3. Enzymatischer Mechanismus der Morphin-Glukuronid-Bildung

Mit der Glukuronid-Bildung von narkotischen Drogen befaßt sich auch ein Bericht von Axelrod und Inscoc (1960). Der Nachweis der Glukuronid-Bildung gelang kurz vor diesem Bericht Dutton und Storey. Sie fanden, daß o-Aminophenol mit Hilfe eines Enzymes an Glukuronsäure gebunden wird. Das Enzym befindet sich in den Lebermikrosomen und überträgt Glukuronsäure von UDP-Glukuronsäure auf den phenolischen Akzeptor. Dieser Prozeß spielt sich bei normal vorkommenden und exogenen Phenolen ab, wobei Carboxylsäuren und Amine als Akzeptoren dienen. Der Nachweis der Glukuronid-Bildung wurde mit Hilfe eines Lebermikrosomenpräparates von Meerschweinchen erbracht. In der Inkubationslösung befanden sich außer dem Substrat und Morphin noch $MgCl_2$, Aminomethan, ein Puffer von pH 8, UDP-Glukuronsäure und Wasser. Bei Inkubation verschwanden die Drogen. Ohne Glukuronsäure war die Minderung der vorhandenen Substratmenge unbedeutend.

Nachdem in der Lösung kein freies Morphin mehr vorhanden war, gab man bakterielle Beta-Glukuronidase zu. Es erschienen daraufhin alle zuvor durch UDP-Glukuronsäure verschwundenen Medikamente nach einer Inkubationszeit von 18 Stunden wieder.

Folgerung:

Die Glukuronsäure der UDP-Glukuronsäure kann durch ein Enzym in den Mikrosomen der Meerschweinchen-Leberzelle auf narkotische Drogen übertragen werden. Die Verbindung findet wahrscheinlich an den Hydroxylgruppen statt.

Ein in-vivo-Versuch verlief folgendermaßen: Urin von Meerschweinchen, die mit Medikamenten behandelt worden waren,

wurde 24 Stunden lang gesammelt und vergeblich auf unveränderte Drogen untersucht. Alle waren als Glukuronide ausgeschieden worden, was durch Säurehydrolyse und Zugabe von β -Glukuronidase nachgewiesen werden konnte.

Doch nicht nur im Urin werden Metaboliten der Morphinreihe ausgeschieden, sondern auch z. B. in der Atemluft. Die quantitativen Zusammenhänge untersuchten Mellett und Woods (1961). Sie verwendeten N-C¹⁴-markiertes Morphin.

Versuchsbeschreibung:

Es wurden Affen verwandt. Die Tiere wurden in diesem in-vivo-Experiment katheterisiert. Der Urin und die ausgeatmete Luft wurden gesammelt. Der Versuch dauerte 24 Stunden. Es wurden nur weibliche Tiere verwandt.

Ergebnisse:

Die Ergebnisse sind in Tab. 6 wiedergegeben.

Tabelle 6:

Ausscheidung im Urin	% der verabreichten Dosis			
	Affe		Hund	
	a	b	a	b
frei	6	14	13	15
gebunden	55	71	48	52
gesamt	61	85	61	67
Ausscheidung von C ¹⁴ O ₂				
in der Atemluft	1,5	0,9	0,2	0,2

Diese Zahlen zeigen, daß durchaus nicht - wie von Axelrod (1960) (siehe oben!) behauptet wird - alles Substrat als Verbindung ausgeschieden wird, sondern daß auch ein ganz bedeutender Prozentsatz als freies Substrat ausgeschieden wird.

Zur Deckung zu bringen sind diese Zahlen dagegen recht gut mit den von Mellett und Woods gefundenen Ergebnissen von Versuchen mit nicht gewöhnten Affen, die, anstatt wie im obigen Versuch, 2,0 mg/kg Morphin, 15 mg/kg Morphin zweimal täglich erhielten. Die totale Ausscheidung lag bei diesen Tieren bei $77 \pm 16,7\%$. Das würde aber bedeuten, daß im Intervall von 2,0 bis 30,0 mg/kg die Stoffwechselkurve sich nicht signifikant ändert.

Die Ergebnisse für die Ausscheidung von $C^{14}O_2$ mit der Atemluft liegen sehr tief im Vergleich Morphin:Levorphanol (0,9 - 1,5% für Morphin, 17 - 24% für Levorphanol).

Die Werte für die Ausscheidung an freiem Morphin stimmen mit den von Cochin gefundenen überein. Sie wurden für nicht gewöhnte Hunde aufgestellt und zeigen parallel zum obigen, daß im Intervall von 2,0 bis 30,0 mg/kg die Stoffwechselkurve in etwa gleich bleibt. Beim Hund ist jedoch auch die $C^{14}O_2$ -Ausscheidung nach Gabe von $N-C^{14}$ -Methyl-Levorphanol sehr niedrig (1,0 - 1,5%).

4. Einfluß der Dosis auf die Stoffwechselkurve

Allgemein wirkt die Dosis auf die Stoffwechselkurve stark ein und stellt einen wichtigen modifizierenden Faktor dar. Für Morphin ist sie jedoch in einem großen Intervall konstant. - Abkömmlinge des Morphins können schon wieder ganz anders abgebaut werden. Der Affe kann z. B. weitgehend die N-Demethylierung von Levorphanol durchführen, während diese

Eigenschaft beim Hund weit weniger ausgeprägt ist. Ähnliche Verhältnisse trifft man bei der O-Demethylierung von Codein an: Affe: 8% - Hund: fast nichts. Als Ergebnis kann man wohl festhalten, daß schon geringe chemische Unterschiede zweier Analgetika zu vollkommen anderem Stoffwechselverhalten führen (Mellett und Woods 1961).

IV. Verteilung des Morphins im Körper

1. Die Blut - Hirn - Schranke

Bei Verteilungsstudien dient Morphin als Modell für alle Analgetika. Man geht generell von der Annahme aus, daß Morphin mit den aktiven Zentren des Rezeptors im ZNS reagiert. Auch wenn - wie Beckett (1956) postuliert - die N-Demethylierung von Morphin für die analgetische Wirkung verantwortlich wäre, müßte das ursprüngliche Molekül erst absorbiert werden.

Allerdings zeigen heute spezialisierte Versuche immer deutlicher, daß das Morphin selbst - und nicht seine Metaboliten - für die Aktivität verantwortlich ist. Die pharmakologischen Wirkungen des Morphins stimmen nämlich sehr wohl überein mit seiner Konzentration im Gehirn. Die gesteigerte Aufnahmefähigkeit für Morphin bei neugeborenen Ratten gegenüber erwachsenen Tieren erwies sich als Folge einer gesteigerten Permeabilität des Gehirns für Morphin bei der jungen Ratte.

Die LD₅₀ für Morphin in der neugeborenen Ratte bleibt während der ersten 16 Tage relativ konstant. Zwischen dem 16. und 32. Tag jedoch kommt es zu einem plötzlichen Anstieg der LD₅₀. Es wurde gezeigt, daß dieser Anstieg vorwiegend zurückzuführen ist auf die Ausbildung einer Blut-Hirn-Schranke (wegen verminderter Permeabilität) für Morphin, während die gesteigerte Fähigkeit, Morphinkonjugate auszubilden oder mit zunehmendem Alter mehr Morphin durch die Niere auszuschcheiden, weniger entscheidende Faktoren darstellen. Für eine solche Blut-Hirn-Schranke spricht auch die Tatsache, daß bei äquitoxischen Dosen von Morphin bei beiden Altersgruppen die "Blutkonzentration" bei den älte-

ren Tieren weit höher sein mußte, um die gleichen Gehirnspiegel zu erhalten wie bei jüngeren. ("Blutkonzentration" = Morphinkonzentration im Blut)

(Kupferberg, Way 1963)

2. Die N-Demethylierung von Morphin im Gehirn

Wie bereits erwähnt, postuliert Beckett (1956), daß die analgetische Wirkung des Morphins auf die N-Demethylierung zurückzuführen ist. Anderer Ansicht ist dagegen Axelrod. Er meint, daß die N-Demethylierung für die Ausbildung der Gewöhnung verantwortlich ist. Es soll an dieser Stelle nicht die Glaubwürdigkeit beider Theorien oder Hypothesen untersucht werden, sondern nur die Tatsache festgehalten werden, daß die N-Demethylierung ein sehr wichtiger Schritt beim Stoffwechsel des Morphins ist. Es wurde von Milthers (1962) untersucht, ob Morphin auch im Gehirn N-demethyliert werden kann.

Versuchsbeschreibung:

Substanzen: Normorphinchlorid, Nalorphinchlorid, Morphinchlorid.

Tiere: männliche erwachsene Albinoratten. Die Tiere wurden zum Teil hepatektomisiert.

Die nicht hepatektomisierten Tiere dienten als Kontrolltiere. Die Tiere erhielten intravenös entweder 100 mg/kg Morphin oder die gleiche Menge Nalorphin. Später sollte festgestellt werden, wieviel Morphin bzw. Nalorphin frei oder gebunden im Blut und im Gehirn vorlag und wieviel Normorphin gebildet worden war. Die Ergebnisse zeigen die Tabellen 7 und 8.

Tab. 7

Die Konzentration des gesamten (freien und gebundenen) Morphins und Normorphins im Blut und Gehirn von normalen und hepatektomisierten Ratten 15 Minuten nach intravenöser Injektion von 100 mg/kg Morphin.

Normale Ratten				Hepatektomisierte Ratten						
Gewicht in g	Konz. im Blut $\mu\text{g/ml}$		Konz. im Gehirn $\mu\text{g/g}$		Gewicht in g	Konz. im Blut $\mu\text{g/ml}$		Konz. im Gehirn $\mu\text{g/g}$		
	Mor- phin	Normor- phin	Mor- phin	Normor- phin		Mor- phin	Normor- phin	Mor- phin	Normor- phin	
270	74	3,1	6,8	<0,7	250	105	1,5	23	1,0	
270	66		10,9		270			21		
285	60	5,0	7,1	<0,7	290			24	1,6	
280	47		7,2		250			22		
310	54 ^{a)}		5,2 ^{c)}		270			28	1,7	
295	59 ^{a)}				280			27		
315	<0,4		250	34	1,0					
315								290	28	
Durchschnitt	62	3,8	7,1					26	1,3	

- a) Freies Morphin betrug 33 μg von insgesamt 64 μg und 36 μg von insgesamt 59 μg
b) Freies Normorphin 2,4 μg von insgesamt 3,6 μg
c) Es lag nur ungebundenes Morphin vor

(Milthers 1962)

Tab. 8

Die Konzentration des gesamten (freien und gebundenen) Nalorphins und Normorphins im Blut und Gehirn von normalen und hepatektomisierten Ratten 15 Minuten nach intravenöser Injektion von 100 mg/kg Nalorphen.

Normale Ratten			Hepatektomisierte Ratten		
Gewicht in g	Konzentration im Gehirn in μg		Gewicht in g	Konzentration im Gehirn in μg	
	Nalorphen	Normorphen		Nalorphen	Normorphen
215	18	1,1	260	230	7,0
215	29		280	239	
210	35	1,3	280	272	2,7
215	28		290	285	2,9
Durchschnitt	28	1,2		257	4,9

(Milthers 1962)

Die Tabellen 7 und 8 zeigen, da nur sehr wenig Material vorhanden war, die gesamten Mengen von konjugiertem und unkonjugiertem Substrat, denn man konnte nicht getrennt freies und gebundenes Substrat bestimmen. Jedoch wurde von einigen normalen Ratten Blut genommen, und man fand 50 bis 60% der gesamten Morphinmenge als freies Morphin, wogegen 60 bis 70% der gesamten Normorphinmenge als freies Normorphin nachgewiesen werden konnte. Im Gehirn wurde nur der ungebundene Stoff gefunden.

Es waren also die Konzentrationen von Morphin und Nalorphin im Gehirn von Versuchstieren (=hepatektomisierte Tiere) höher als bei normalen Ratten. Das ist verständlich, da die Bindung dieser Stoffe hauptsächlich in der Leber stattfindet, und nur freie Analgetika die Blut-Hirn-Schranke überwinden können. Der Unterschied der Konzentration bei Nalorphin ist außergewöhnlich groß. Wahrscheinlich ist dies der Grund dafür, daß Nalorphin in größerem Maße gebunden wird.

1956 beschrieb Axelrod, daß die Transformation von Morphin zu Normorphin in vitro durch Mikrosomen der Leber von männlichen Ratten stattfindet, jedoch die Mikrosomen von Niere, Gehirn, Muskeln oder Milz keine Aktivität zeigten. Die Ergebnisse von Milthers (1962) beweisen jedoch, daß Morphin und Nalorphin im Gehirn lebender Tiere durchaus zu Normorphin transformiert werden können. Das Verhältnis Blut/Gehirn-Verteilung an freiem Morphin ist etwa das gleiche wie bei normalen Ratten. Hepatektomie scheint also die Blut-Hirn-Schranke nicht zu beeinflussen und daher erscheint es unwahrscheinlich, daß sie das Durchtreten des Normorphins behindert. Nun ist die Verteilung von freiem Normorphin bei Versuchstieren in Gehirn und Blut etwa

gleich (1,3 : 1,5), bei normalen Tieren jedoch etwa 6 (Blut : Gehirn = 2,4 : 0,4). Die Blutkonzentration von Normorphin bei Versuchstieren ist also gering, wogegen die Gehirn-Konzentration recht hoch ist. Der Hauptfaktor der N-Demethylierung, die Leber, ist nicht mehr vorhanden, also muß die N-Demethylierung vom Gehirn selbst durchgeführt worden sein.

Normorphin wurde im Gehirn in höherer Konzentration gefunden nach Nalorphingabe als nach Morphingabe. Diese Tatsache deckt sich nicht mit der Hypothese von Beckett (1956) (s.o.), denn Nalorphin hat eine geringere analgetische Aktivität als Morphin (Milthers 1962).

3. Verteilungsstudien mit radioaktiv gekennzeichneten

Analgetika

a) N-C¹⁴-Morphin

Die Verteilung von N-C¹⁴ gekennzeichnetem Morphin im ZNS untersuchten 1962 Mule und Woods. Sie stellten ihre Versuche mit normalen und gewöhnten Hunden an. Hier soll nur sehr kurz und am Rande auf dieses überaus spezielle Thema eingegangen werden. Markiertes Morphin wurde vor nicht markiertem Nalorphin subkutan injiziert. Daraus resultierte ein signifikantes Anwachsen des ZNS - Spiegels von Nalorphin in gewöhnten Hunden. Gleichzeitige Verabreichung beider Medikamente oder Vorbehandlung mit Nalorphin hatten ein Anwachsen oder keine Änderung des ZNS - Spiegels von Morphin bei nicht gewöhnten Tieren zur Folge, verglichen mit Kontrollwerten. Die Wirkung von Nalorphin auf die Plasma- und Cerebrospinalflüssigkeits-Konzentration war etwas unterschiedlich.

Papierchromatographische Studien gewährten keinen Einblick über den N-C¹⁴-gekennzeichneten Metaboliten von Morphin im ZNS und der Ausscheidung im Urin von widerstandsfähigen und nicht gewöhnten Tieren.

(Mule und Woods 1962)

b) Dihydromorphin - H³

Mit markiertem Dihydromorphin (DHM-H³) könnte die Verteilung räumlich und zeitlich sehr gut verfolgt werden. Als Träger der Radioaktivität verwandte man Tritium. Als Versuchstiere dienten Mäuse. Die Tiere erhielten die Droge subkutan gespritzt. Schon drei Minuten nach der Injektion in die untere Rückenpartie wurde eine große Menge gekennzeichneten Dihydromorphins am Ort der Injektion festgestellt. Die Absorption der Droge hatte begonnen und lief fort zur Vena cava inferior und umliegenden Geweben. Schon zu diesem frühen Zeitpunkt hatte die Ausscheidung der Droge begonnen und ließ sich vor allem in der Lunge, den Nieren und den oberen Teilen des Ureters gut verfolgen, da dort die höchsten Konzentrationen zu beobachten waren. Die Niere zeigte besonders große Affinität zu Dihydromorphin-H³. Auch das braune Fett der Nackenregion und die Retina zeigten zu dieser Zeit schon eine Ansammlung von Dihydromorphin-H³.

15 Minuten nach der Injektion hatten alle Gewebe bereits Dihydromorphin-H³ aufgenommen. Die größte Menge war unverändert zu finden in der Lunge, der Milz, den Nieren, der Skelettmuskulatur, dem Magen und im Dünndarm. In der Leber jedoch waren 63% des Medikamentes in gebundener Form vorhanden. Das Gehirn enthielt nur relativ wenig Dihydromorphin. Der höchste Gewebespiegel wurde 1 Stunde nach der Injektion

beobachtet. Diese Werte gibt die Tabelle 9 wieder, wobei Bezug genommen ist auf das Gehirn (=1).

Tab. 9

Gewebe	Gewebespiegel relativ zum Gehirn	
	Methode A	Methode B
Gehirn	1	1
Lunge	11	18
Herz	4	11
Milz	12	14
Skelettmuskulatur	6	9
Niere	67	63
Leber	18	25
Dünndarm und Inhalt	19	37
Mageninhalt	6	4
Braunes Fett	16	-
Weißes Fett	-	3
Glandula Salivarii	44	-

Methode A: Präparate des ganzen Körpers wurden verwandt.

Methode B: Organe und Gewebe wurden intakt von den Tieren genommen.

Nach 2 Stunden war der größte Teil schon wieder ausgeschieden. Es wurden große Mengen des Medikamentes in den Ausscheidungsprodukten (Urin und Dünndarminhalt) gefunden. 30% des Urin-Gehaltes waren freies Morphin und 20% des Intestinum-Spiegels waren freies Morphin. Der Rest war gebundenes Morphin.

Der letzte Rest von Radioaktivität konnte 8 Stunden nach der Injektion im Colon beobachtet werden. Davon waren 91%

freies Dihydromorphin-H³. Mit den Feces wurden also mehr als 90% als freies Dihydromorphin-H³ ausgeschieden.
(Hug, Mellett 1963)

4. Bedeutung der Gewöhnung für Organ- und Blutspiegel an freiem und gebundenem Morphin

In einer anderen Versuchsreihe wurde das Verhältnis von gebundenem Morphin : 100 (gesamtes minus freies Morphin/ gesamtes Morphin) in der Leber und freiem Morphin im Blut von gewöhnten Ratten, die durch intravenöse Injektion eine tödliche Morphindosis an 1, 3, 8 und 16 Tagen nach der Entziehung erhielten, untersucht. Die Resultate wurden mit denen von zwei in nicht gewöhnten Kontrollgruppen erzielten verglichen: Eine davon erhielt eine tödliche Morphindosis und die andere bei Verwendung von künstlicher Atmung eine für gewöhnliche Ratten tödliche Dosis. Die Verbindungen wurden nach chromatographischer Trennung des freien Morphins vom Normorphin und anderen Stoffwechselprodukten eingeschätzt. Die tödliche Dosis bei widerstandsfähigen Ratten war in den ersten drei Tagen nach Entziehung bedeutend höher als bei den Kontrollgruppen. Das Verhältnis von gebundenem Morphin, das in der Leber von gewöhnten Ratten in den ersten drei Tagen nach der Entziehung gefunden wurde, war bedeutend höher als bei den Kontrollgruppen. Diese gesteigerte Leistungsfähigkeit zur Bindung von Morphin in der Leber von gewöhnten Ratten war nicht eine Folgeerscheinung der höheren, injizierten Dosen, da dies bei nicht gewöhnten Kontrollgruppen, welche die gleiche Dose bei Verwendung von künstlicher Beatmung erhalten hatten, nicht beobachtet wurde.

Tab. 10

Tag nach letzter Dosis	LD Morphin		Gebundenes Mor- phin (%)
	Zahl	mg/kg	
1	8	668 $\pm$ 37	53 $\pm$ 8,8
3	9	494 $\pm$ 9	53 $\pm$ 6,8
8	4	372 $\pm$ 19	30 $\pm$ 16,0
16	4	303 $\pm$ 38	18 $\pm$ 12,0
Nicht gewöhnte Kontrolltiere	11	347 $\pm$ 16	24 $\pm$ 6,1
Nicht gewöhnte Kontrolltiere unter künstli- cher Beatmung	4	522 $\pm$ 0,4	28 $\pm$ 7,0

Durchschnittliche tödliche Dosis (LD) von Morphin und das Verhältnis von gebundenem Morphin in der Leber von gewöhnten Ratten, die eine lethale Dosis von Morphin-HCl erhielten durch intravenöse Injektion an verschiedenen Tagen nach der Entziehung. (Penna-Herreros 1968)

Tab. 11

Tag nach letzter Dosis	LD Morphin		Freies Morphin im Blut (μ g/ml)	
	Zahl	mg/kg	Zahl	
1	5	733 $\pm$ 49	5	282 $\pm$ 23
3	5	471 $\pm$ 31	5	206 $\pm$ 29
Nicht gewöhnte Kontrolltiere	14	278 $\pm$ 18	14	312 $\pm$ 45

(Zu Tabelle 11:)

Blutspiegel von freiem Morphin in gewöhnten Ratten, die eine lethale Dosis Morphin-HCl durch intravenöse Infusion zu verschiedenen Tagen nach der Entziehung erhalten hatten. (Penna-Herreros 1968)

Trotz der Tatsache, daß die tödliche Morphindosis in den ersten drei Tagen nach Entziehung bei den widerstandsfähigen Ratten bedeutend höher als im Vergleich mit nicht gewöhnten Kontrollgruppen war, unterschied sich der Blutspiegel von freiem Morphin in beiden Gruppen nicht wesentlich. (Penna-Herreros 1968)

5. Einfluß einer verlängerten Verabreichung von Morphin auf Blut-, Organ- und Urinspiegel

In einer Gegenüberstellung zeigt Drabowski (1966), welchen Einfluß die Gewöhnung und längere Verabreichung auf das Schicksal des Morphins im Organismus hat. Zu diesem Versuch wurden 97 Wistar Ratten männlichen Geschlechtes verwandt, die ein Gewicht von 190-230 g hatten. Es wurden bestimmt: die Morphinspiegel in der Leber, Niere, dem Gehirn, Blut und Urin bei verlängerter Verabreichung.

Man ging folgendermaßen vor:

Urin: Determination am ersten Tag bei subkutaner Injektion von 40 mg/kg. Weiterhin am siebten, vierzehnten und einundzwanzigsten Tag, jeweils nach der gleichen Dosis von 40 mg/kg. Die Tiere befanden sich in Stoffwechselskäfigen, der Urin wurde gesammelt und 15 mal mit 6,7% Trichloressigsäure verdünnt. Die Ratten wurden in Gruppen zu je 5 Tieren geteilt. Der Urin der Kon-

trolltiere wurde auch gesammelt und analysiert.
(Methode nach Woods!)

Morphinspiegel in Organen und Blut: Bestimmung nach Kirsten (1962). Gestimmung am ersten, siebten, vierzehnten und einundzwanzigsten Tag, jeweils nach der gleichen Dosis von 40 mg/kg und zwar 30, 60, 120, 180, 240 und 360 Minuten nach der Injektion. Alle Bestimmungen wurden mit einem FEK - 56 Photocolorimeter durchgeführt unter Verwendung von "Folins Reagens".

Das Ergebnis bekräftigt die Tatsache, daß bei längerer Gabe von Morphin die Menge an freiem Morphin in allen Organen und im Blut verringert wird. Die Menge an freiem Morphin im Urin hingegen stieg an und erreichte den Wert von 72 Mikrogramm pro ml am 21. Tag gegenüber 10 Mikrogramm pro ml am ersten Tag. Der Abfall des Morphinspiegels ist am offensichtlichsten im Blut, wo am ersten Tag 11,5 Mikrogramm pro ml waren, am 21. Tag nur noch 1,2 Mikrogramm pro ml. Ein ähnliches Verhalten zeigt die Leber. In der Niere wird ein eigenartiges Verhalten beobachtet. Es stellt sich nämlich nach 14 Tagen ein konstanter Wert von 8,8 Mikrogramm/g ein. Im Gehirn war ein Abfall von 16 Mikrogramm pro Gramm Gewebe am ersten Tag auf 7,8 Mikrogramm pro Gramm Gewebe am 21. Tag zu verzeichnen.

Abb. 22: Blut-, Organ- und Urinspiegel von freiem Morphin während seiner verlängerten Gabe in Dosen von je 40 mg/kg Körpergewicht.

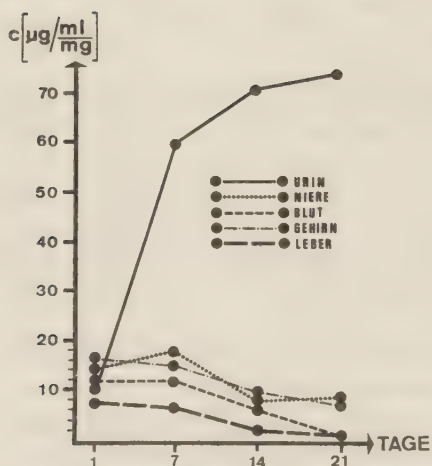


Abb. 22

(Drabowski, 1966)

Diese Ergebnisse können bedeuten, daß die genannten Organe nur eine geringe Fähigkeit haben, Morphin zu halten, oder daß Morphin inaktiviert wird durch Konjugation, Oxidation und Exkretion. Für die Exkretion spricht der Umstand, daß ein ziemlich hoher Morphinspiegel in der Niere verbleibt und der Urinspiegel stark ansteigt. Mit fortdauernder Gabe von Morphin wird vom tierischen Organismus immer weniger von dem Substrat gehalten. Der Organismus erwirbt langsam die Fähigkeit, Morphin in erhöhtem Maße auszuschcheiden. Es ist jedoch nicht ausgeschlossen, daß Morphin in den Organen als Verbindung vorliegt, deren Bestimmung u. U. große Schwierigkeiten bereitet. Radioaktive Methoden scheinen diese Annahme zu bestätigen.

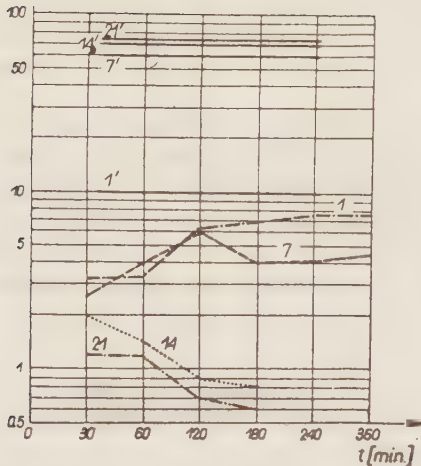


Abb. 23: Freies Morphin in Leber und Urin während langdauernder Gabe in Dosen von je 40 mg/kg Körpergewicht. (Drabowski, 1966)

6. Einfluß von Nalorphin auf Leber- und Blutspiegel von Morphin

Man untersuchte auch den Einfluß von Nalorphin auf den Anteil des in der Leber festgestellten, gebundenen Morphins, sowie auch auf das Ausmaß von freiem Morphin im Blut von Ratten, welche durch intravenöse Infusion eine tödliche Dosis von Morphin erhalten hatten. Die Alkaloide wurden an Hand von densitometrischen Messungen des Flecks geschätzt, welcher nach chromatographischer Trennung des

freien Morphins vom Normorphin und anderen Stoffwechselprodukten mittels Kaliumiodoplatinat sichtbar wurde. Gebundenes Morphin wurde mit HCl während 30 Minuten im Autoclaven hydrolisiert.

Die Nalorphindosis (12-15 mg/kg i.v.) genügte, um die tödliche Morphindosis bedeutend zu verstärken. Der in der Leber von Ratten mit vorheriger Nalorphindosis vorgefundene Anteil von gebundenem Morphin war bedeutend höher als in Kontrollgruppen (welche entweder eine gleichwertige Morphindosis oder eine lethale Dosis dieses Alkaloids erhalten hatten).

Tab. 12

Lethale Dosis von Morphin		Gebund. Morphin		Freies Mor-	
Kontrolle	Nalorphin	in der Leber		phin im Blut	
		(%)		(g/ml)	
		Kontr. Nalorph.		Kontr. Nalorph.	

Gepaarte Versuche					
253	252	22	83	712	88
249	248	33	87	363	125
168	168	49	80	313	113
223	225	63	93	225	25
223 $\pm$ 19	223 $\pm$ 19	42 $\pm$ 9	88 $\pm$ 2	403 $\pm$ 107	88 $\pm$ 21

Unabhängige Versuche					
220	435	22	78	613	225
355	576	43	64	313	225
280	288	58	83	325	188
285 $\pm$ 10	433 $\pm$ 81	41 $\pm$ 10	75 $\pm$ 6	417 $\pm$ 99	202 $\pm$ 10

Aus der Tabelle geht hervor, daß Nalorphin augenscheinlich die Bindung des Morphins fördert. Es besitzt keine antagonistische Wirkung auf die LD-Wirkung des Morphins, sondern erhöht eher noch dessen lethale Wirkung.

Im Blutspiegel von freiem Morphin von mit Nalorphin vorbehandelten Ratten wurde bei Todeseintritt keine Erhöhung, sondern sogar eine Senkung festgestellt im Vergleich mit nalorphinfreien Kontrollgruppen. (Penna-Herreros 1968)

Soviel sei über die Bindung und Verteilung des Morphins im Körper gesagt. Es konnte gezeigt werden, daß es sich sehr schnell auf alle Organe des Körpers - einschließlich das Gehirn - verteilt. Allerdings wird es auch sehr schnell wieder ausgeschieden. Die Ausscheidung beginnt praktisch schon wenige Minuten nach der Injektion. Die allerletzten Reste verlassen den Körper spätestens nach 8 Stunden, wie mit Tritium-markiertem Dihydromorphin gezeigt werden konnte.

V. Der Stoffwechsel des Codeins

1. Die Desalkylierung

a) O-Desalkylierung zu Morphin

Die Wirksamkeit des Codeins liegt - wie bereits erwähnt - hauptsächlich in seiner Biotransformation zu Morphin. Morphin jedoch hat eine weit größere Wirksamkeit als Codein und im Hinblick darauf ist der Umbau von Codein zu Morphin von ganz besonderer Bedeutung (siehe Teil I. 2. Die O-Desalkylierung!).

Trotz des ausgedehnten Stoffwechsels von Codein zu Morphin in der Ratte, sind neuere Befunde wenig ergiebig im Hinblick auf die Rolle, die das entstehende Morphin im Einzelnen spielt. Bei äquianalgetischen Dosen von Morphin und Codein waren die Konzentrationen von Morphin im Gehirn gleich. Der Gehirnspiegel von Morphin war ca. 0,2 Mikrogramm/g bei Dosen von 5,0 bis 8,5 mg/kg Morphin und 16 bis 30 mg/kg Codein intraperitoneal. Die genannten Dosen waren äquianalgetisch. Der daraus resultierende Gehirnspiegel für Morphin war für Morphin und Codein sehr ähnlich. Dies rechtfertigt die Annahme, daß Codein erst nach Umwandlung zu Morphin wirkt.

Bei Gaben von 30 mg/kg N-C¹⁴H₅-Codein intraperitoneal verabreicht oder 60 mg/kg subkutan gegeben zeigten sich nach Johannesson (1964) Morphin-Gehirnspiegel von weniger als 0,1 Mikrogramm.

Hier ist nun eine Schwäche der radioaktiv markierten Drogen zu erkennen. Morphin konnte nicht vollständig nachgewiesen werden, weil gleichzeitig hohe Konzentra-

tionen von markiertem Codein im Gehirn waren und dieses das Morphin überdeckte. Von den vorhergehenden Versuchen ohne Kennzeichnung wußte man aber über den wahren Morphinspiegel von etwa 0,2 Mikrogramm/g Ausscheid.

Die Plasmaspiegel lagen bei den gleichen Experimenten bei 0,2 bis 0,5 Mikrogramm/ml. - ^Uoviel über die Verteilung des Codeins im ZNS und Plasma.

b) N-Desalkylierung zu Norcodein

Auch ein anderer Schritt beim Stoffwechsel des Codeins verdient besondere Beachtung: Die N-Desalkylierung zu Norcodein. Norcodein ist nämlich weit wirksamer als Codein; die lethalen Dosen für Codein liegen sechs mal so hoch wie die für Norcodein. Die analgetische Wirkung des Norcodeins ist doppelt so stark wie die des Codeins. Da bei "tail-flick" Versuchen (siehe Teil I. 2. Die O-Desalkylierung!) nur die Morphinwirkung durch Nalorphin aufgehoben wurde, nicht jedoch die Wirkung von Codein oder Norcodein, kann daraus geschlossen werden, daß Rezeptoren, die für die Reaktion verantwortlich sind, für Morphin und Codein verschieden sind. (Johannesson 1964)

2. Codein-Glukuronid-Bildung

Der wichtigste Metabolit des Codeins ist ähnlich wie bei Morphin das Glukuronid (Yoshimura 1968). Gebundenes Codein ist ähnlich wie gebundenes Morphin in der Urinausscheidung unter anderem gefunden worden. Dieses "gebundene Codein" ist Codeinglukuronid. Es wurde in einer in-vitro-Synthese hergestellt. Man hoff-

te dadurch Aufschlüsse zu erhalten, die die Identifizierung von gebundenem Codein erleichtern, außerdem war diese Synthese nützlich für pharmakologische und toxiologische Studien. Man erhielt das Codeinglukuronid durch Kondensation von Codein mit einem Acetobromozuckerderivat in Gegenwart von Silbercarbonat. Anschließend fand Solvolyse und Hydrolyse mit Natriummethoxid und Bariumhydroxid statt. (Yoshimura 1968)

3. Ausscheidungsprodukte aus dem Codein-Stoffwechsel

Die Halbwertszeit des Codeins nach oraler Gabe von 65 mg Codeinphosphat (entspricht 45,5 mg Codein) betrug beim Menschen ca. 3 Stunden. In zwei Experimenten wurden die Ausscheidungskurven für Codein und Morphin aufgestellt.

Versuchsbeschreibung:

Von allen Versuchspersonen wurde der Urin untersucht.

Experiment Nr. 1: Sieben gesunde Männer wurden untersucht. Gewicht: 70 bis 75 kg. Jeder mußte um 7 Uhr morgens aufstehen und dann eine Kapsel mit 65 mg Codeinphosphat schlucken. Der Urin wurde dann in Intervallen gesammelt über eine gesamte Versuchsdauer von 32 Stunden.

Experiment Nr. 2: Bei sechs Männern wurden Codein und Morphin im Urin bestimmt. Der Urin wurde 14 Tage lang gesammelt.

Norcodein wurde nicht untersucht.

Ergebnis:

Im Urin erschienen 75 % als Codein (frei und gebunden).
14 % fand man als Morphin wieder. Norcodein wurde nicht
berücksichtigt.

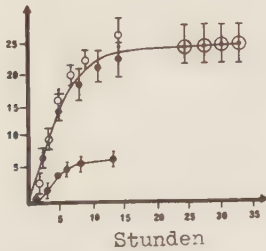


Abb. 24: Kumulative Exkretionskurve, Codein und Morphin
im Urin nach oraler Gabe von 65 mg Codeinphos-
phat bei 13 Menschen. Ringe mit Punkt: mg Codein
ausgeschieden von 7 Individuen. Urin wurde 32
Stunden lang gesammelt. Offene Kreise: mg Co-
dein ausgeschieden von 6 Männern. Urin 14 Stund-
en lang gesammelt. Schwarze Punkte: mg Morphin
ausgeschieden von den gleichen 6 Versuchspersonen.

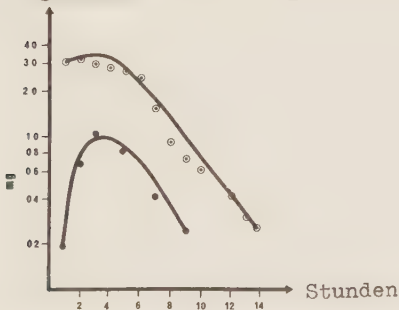


Abb. 25: Exkretionskurve von Codein und Morphin (mg/Std.).
Schwarze Punkte: Morphin. Kreise: Codein.

(Redmond, Parker 1963)

VI. Der Stoffwechsel des Heroins - Verteilung und

Wirkungsmechanismus

Große Bedeutung unter den Estern der Morphin - Reihe kommt dem Heroin zu. Während bei den anderen Estern, wie Meperidin, Anileridin, Athoheptazin und Acetylmethadol, die freigesetzte Säure weniger aktiv ist als die ursprüngliche Verbindung, nimmt Heroin hier eine Sonderstellung ein. Durch die Hydrolyse findet nämlich in den Geweben wohl eine Detoxifizierung statt, im Gehirn jedoch bedeutet dieser Schritt eine Aktivierung des Mittels. Diese Ausnahmestellung muß stets berücksichtigt werden, wenn man die Auswirkung von Medikamentengabe auf den Organismus und das Verhalten des Individuums untersucht.

Heroin wird sehr schnell zu 6 - Monoacetylmorphin abgebaut und anschließend von den meisten Organen - das Gehirn eingeschlossen - zu Morphin. Die hohe Geschwindigkeit, mit der Heroin abgebaut wird, läßt erkennen, daß unverändertes Heroin nur geringe sedative pharmakologische Effekte hervorbringt und daß die Hauptursache für die spezielle Wirkung des Heroins in den Verbindungen zu suchen ist, die sich aus seinem Stoffwechsel ergeben: die Biotransformation zu Monoacetylmorphin und weiter zu Morphin. - Morphin ist also wohl vor allem verantwortlich für die pharmakologischen Wirkungen des Heroins, während die Rolle des Monoacetylmorphins wahrscheinlich die ist, daß es als Carrier dient, der das Hinzutreten des Morphins an die Rezeptoren des ZNS fördert.

Die Halbwertszeit des Heroins nach intravenöser Injektion einer fast lethalen Dosis war bei der Maus nur etwas mehr als 2 Minuten. Der Gehirnspiegel von Heroin war nach zwei

Minuten noch feststellbar, nach 7,5 Minuten jedoch schon nicht mehr. Darüber hinaus konnte eine mehrfach größere Toxizität des Heroins über die des Morphins bei intravenöser oder subkutaner Injektion festgestellt werden. Injizierte man jedoch intracerebral, so lag die lethale Dosis des Heroins etwa 2 bis 3 mal so hoch wie die des Morphins (Way, Kemp, Young, Grassetti 1960).

Während für das Morphin in den ersten beiden Wochen bei der jungen Ratte die Blut-Gehirn-Schranke ausgebildet wird, gibt es für das Heroin keine Schwierigkeiten, diese Barriere zu überwinden. Offenbar erleichtern die Acetylgruppen den Zutritt in das ZNS.

Warum ist nun Heroin wirksamer als Morphin, wo doch die Hauptaktion des Heroins auf der Umwandlung zu Monoacetylmorphin und Morphin selbst beruht? - Als ersten Grund kann man angeben, daß die Blut-Hirn-Schranke zwar für Morphin, nicht aber für Heroin ein Hindernis darstellt. Außerdem ist Heroin besser lipidlöslich - ebenso Monoacetylmorphin. Die beiden Stoffe dringen also leicht in das ZNS ein, dort vollzieht sich die schnelle Hydrolyse der beiden Verbindungen zu Morphin; im Kindesalter, wenn noch keine Blut-Hirn-Schranke ausgebildet ist, kann Heroin also höchstens gleich-toxisch sein wie Morphin, keinesfalls aber toxischer. Die lethale Dosis (LD) für Heroin in Ratten blieb folgerichtig auch während der Zeit konstant, als die LD für Morphin rapide anstieg. Die Toxizität der beiden Verbindungen war auch während der ersten Tage gleich; später nahm dann die des Morphins ab (Way, Young, Kemp 1965).

C. DISKUSSION

Allgemeine chemische Struktur und pharmakologische Wirkung der Opiate

Der chemischen Struktur nach läßt sich Morphin sowohl als ein Phenanthrengerüst darstelltn, in das ein Piperidin- und ein Tetrahydrofuranring eingelagert sind, als auch von einem teilweise hydrierten Isochinolin-Ring-System herleiten. Morphin besitzt eine phenolische OH-Gruppe, die offenbar für die analgetische Potenz weitgehend verantwortlich ist. Wird sie nämlich alkyliert, wie z. B. beim Methymorphin (=Codein), oder beim Äthylmorphin (=Dionin), so nehmen analgetische Potenz und suchterzeugende Wirkung ab. Ist jedoch die phenolische Gruppe verestert, z. B. mit einem Acetylrest (Acetylmorphin), sowird die Morphinwirkung verstärkt. Am stärksten sind analgetische und suchterzeugende Wirkung, wenn die phenolische und die alkoholische OH-Gruppe acetyliert sind (Di-acetylmorphin = Diamorphin = Heroin). (Kuschinsky und Lüllmann 1970)

N-Desalkylierung

Der Stoffwechsel der Opium-Alkaloide ist für die spezifische Wirkung dieser Mittel von großer Wichtigkeit. Der wichtigste und wahrscheinlich allen gemeinsame metabolische Schritt ist die N-Desalkylierung. Als Folge dieses Schrittes entstehen die sog. Nor-Verbindungen. Diese sind alle weit toxischer als das ursprüngliche Medikament, besonders im Hinblick auf verstärkte Krampfstände. Anders sieht es bei der analgetischen Wirkung aus. Hier sind die Nor-Verbindungen weniger wirksam als die ursprünglichen. Das zeigt sich daran, daß bei glei-

cher Dosis subkutan gespritztem Normorphin weniger Müdigkeit, Hypothermie, Atmungsdepression und Miosis auftraten als bei Morphin.

Die N-Desalkylierung findet in den Mikrosomen der Leber statt. Diese können nur körperfremde N-Alkyl-Verbindungen desalkylieren, während die Enzyme der Lebermikrosomen natürlich im Gewebe vorkommende entsprechende Verbindungen nicht angreifen (Franklin 1965). Die Vielzahl von verschiedenen Verbindungen, die diese Enzyme angreifen, läßt zwei mögliche Aussagen über die Art dieser Enzyme zu: einerseits ist es möglich, daß es eine relativ unspezifische N-Desalkylase in den Lebermikrosomen gibt, andererseits kann man auch ein System von vielen verschiedenen, relativ spezifischen N-Desalkylasen annehmen. Die Antwort auf diese Frage kann bis heute noch nicht mit Sicherheit gegeben werden (Franklin 1965).

Die Tätigkeit der Enzyme bei der N-Demethylierung wird allgemein anhand der Formaldehydbildung gemessen. Von normalen männlichen Ratten wurden Leberpräparate hergestellt und mit Morphin bebrütet. Über 90 Minuten blieb die N-Demethylierungsrate konstant und sank dann ab. Nach 120 Minuten war keine Formaldehydbildung mehr zu beobachten (Franklin 1965).

Die "normale" N-Desalkylierung kann jedoch durch viele Faktoren beeinflusst werden. Sie wird zum Teil gehemmt, zum Teil stimuliert. Bei vielen Gattungen (z.B. Ratten und Mäusen) treten sehr deutliche Geschlechtsunterschiede bei der N-Demethylierung auf. Allgemein wird angenommen, daß die Produktion von Androgenen der dominierende Faktor für die verschiedene Geschwindigkeit beim Ablauf

von Stoffwechselvorgängen bei Tieren verschiedenen Geschlechtes ist. Kastration zeigte bei männlichen Tieren (Ratten) eine wesentliche Beeinträchtigung des Stoffwechsels, während bei weiblichen Tieren die Geschwindigkeit der N-Demethylierung kaum signifikant verändert war, wogegen jedoch die Behandlung weiblicher oder kastrierter Tiere mit Testosteron die Geschwindigkeit beschleunigte (dieser Ansicht von Davies (1968) steht gegenüber, daß Tephly (ebenfalls 1968) behauptet, daß alle Steroide - also auch Testosteron - die N-Demethylierung von Morphin hemmen). Man suchte Geschlechtsunterschiede mit eventuellen endogenen, reversibel gebundenen Aktivatoren zu erklären (Davies 1968), konnte jedoch keine solchen Stoffe nachweisen. Vielleicht gibt es auch irreversibel an das aktive Zentrum der Enzyme gebundene Aktivatoren - das ist unwahrscheinlich, da sich die Anwesenheit eines solchen Stoffes in der Änderung der Werte für die maximale Geschwindigkeit ($V_{\max}$) äußern würde und nicht in einer Änderung der Michaeliskonstanten. Schließlich ist noch eine Substanz denkbar, die irreversibel an ein anderes als das aktive Zentrum gebunden ist. Geschlechtsunterschiede hätten so allosterische Unterschiede in der Struktur des Enzymsystems zur Folge. Für alle Möglichkeiten gibt es Thesen und Antithesen. Eine Antwort kann noch nicht gegeben werden. (Davies 1968)

Hemmung und Stimulierung der N-Desalkylierung

Die N-Demethylierung kann bewußt durch viele verschiedene Manipulationen gesteuert werden und je nach Wunsch gehemmt oder stimuliert werden. Als Hemmstoffe seien genannt: Kohlenmonoxid, Nalorphin und Levallorphan, Hexobarbital und Steroide. Auch chronische Morphingabe

kann die N-Demethylierung stark hemmend beeinflussen. Dies kann Grund für Gewöhnung und Sucht sein. Die N-Demethylierung ist ja weitgehend mitverantwortlich für die Wirkung des Morphins. Wird sie nun herabgesetzt (das kann bis auf 10% der ursprünglichen Rate geschehen), so muß mehr Morphin zugeführt werden, um die gleiche Wirkung zu erzielen wie anfangs. Auf diese Weise entsteht ein *circulus vitiosus*. (George 1968; Rubin 1964; Franklin 1965; Axelrod und Cochin 1957; Tephly 1968;)

Stimulierend auf die N-Demethylierung wirken Phenobarbital - als klassisches Stimulans im Medikamentenstoffwechsel - und Stress. Die Mechanismen für beide Reaktionsweisen wurden ursprünglich als verschieden angenommen. Drierer und Bousquet (1965) haben jedoch einen gemeinsamen Grund für die Stimulierung in der erhöhten Protein-Synthese in beiden Fällen gefunden.

O-Desalkylierung

Einen weiteren wichtigen Schritt beim Stoffwechsel der Opium-Alkaloide stellt die O-Desalkylierung dar. Welche Gemeinsamkeiten mit der N-Desalkylierung bestehen und welche Unterschiede auftreten, stellte George (1968) in einer Versuchsreihe heraus. Die O-Desalkylierung findet ebenfalls als Wirkung der Enzyme der Lebermikrosomen statt. Wie bei der N-Demethylierung zeigt auch hier Kohlenmonoxid einen hemmenden Effekt, der durch Licht in gleicher Weise beeinflussbar ist: Weißes Licht hebt die Hemmung auf, während Licht von 450 nm Wellenlänge den geringsten Effekt zeigte. Gemeinsam ist beiden Vorgängen noch, daß sie durch Hexobarbital gehemmt werden, jedoch zeigen die Hemmungskurven, daß in beiden

Fällen andere Mechanismen zu Grunde liegen.

Sehr deutlich ist der Unterschied bei der Wirkung des Phenobarbitals. Die N-Desalkylierung wird dadurch stark stimuliert, während das Mittel auf die O-Desalkylierung keinen signifikanten Einfluß hat. Phenobarbital hat keinen Einfluß auf die O-Desalkylierung von Äthylmorphin und Norcodein, jedoch auf die O-Desalkylierung von Phenacetin. Daraus ist zu erkennen, daß für die O-Desalkylierung zwei verschiedene Enzymsysteme in der Leber existieren, die nicht nur funktionsspezifisch, sondern auch substratspezifisch sind. Die Enzyme wirken oxidativ. Sowohl die Enzyme für die N-Desalkylierung wie auch die für die O-Desalkylierung finden sich in der Mikrosomenfraktion der Leber. Allerdings benutzen nach Elison und Elliott (1964) O- und N-Desalkylierung spezielle Enzymsysteme, d.h. beide Prozesse nehmen so zwei ganze Gruppen von verschiedenen Enzymsystemen in Anspruch.

Die O-Desalkylierung wird meist an Hand von Codein beschrieben, welches zu Morphin O-desalkyliert wird. Adler (1963) zeigte, daß die O-Desalkylierung bei der Applikation von Codein eine wesentliche Rolle spielt, d. h. daß das daraus entstehende Morphin signifikant an der Wirkung des Codein-Präparates beteiligt ist. Im Tierversuch mit der Maus wurden 24% des Codeins in Morphin umgewandelt. Da die letale Dosis des Morphins weit niedriger liegt als die des Codeins, seine Toxizität dagegen wesentlich stärker ist, ist bei der Indikation von Codein stets zu beachten, daß durch O-Desalkylierung ein großer Teil zu Morphin abgebaut werden kann.

In diesem Zusammenhang sei noch einmal darauf hingewiesen, daß beim Codein nicht nur die O-Desalkylierung, sondern auch in speziellem Maße die N-Desalkylierung zu

Norcodein eine wichtige Rolle spielt. Die letale Dosis des Norcodeins ist gegenüber dem Ausgangsprodukt sechs mal kleiner, die analgetische Wirkung doppelt so groß. Während der "tail-flick" Effekt bei der Maus bei Morphin durch Nalorphin aufgehoben werden kann, ist das bei Codein und Norcodein nicht möglich. Daraus wird gefolgert, daß die Rezeptoren, die für die Reaktion verantwortlich sind, in beiden Fällen verschieden sind. Andererseits wurden bei äquianalgetischen Dosen von Morphin und Codein die gleichen Morphin-Spiegel festgestellt, was zu der Folgerung führen kann, daß Codein nur nach Umwandlung zu Morphin analgetisch wirkt. Mit Sicherheit kann auch diese Frage noch nicht beantwortet werden. (Johannesson 1964)

Hydrolyse

Bei den Estern der Morphin-Reihe (Heroin, Meperidin, Anileridin, Äthoheptazin und Acetylmethadol) spielt die Hydrolyse eine wichtige Rolle. Die entstehende Säure hat normalerweise nur noch wenig von der Aktivität der ursprünglichen Verbindung behalten und wird nach kürzester Zeit mit dem Urin - in gebundener Form - ausgeschieden. Bei der Maus beträgt die Halbwertszeit des Heroins nur 2 Minuten, was dafür spricht, daß die Hydrolyse sehr schnell fortschreitet. Das Heroin nimmt unter den übrigen Estern insofern eine Sonderstellung ein, als es im Gehirn durch die Hydrolyse eine Aktivierung erfährt, während Hydrolyse bei den anderen Estern sowohl im Gewebe als auch im Gehirn eine Detoxifizierung bedeutet. Der schnelle Abbau des Heroins zu Monoacetylmorphin und weiterhin zu Morphin spricht dafür, daß unverändertes Heroin offenbar gar nicht sehr wirksam ist. Entscheidend sind die genannten Metaboliten, die als eigentliche Träger der Wirkung nach Heroingabe anzusehen sind.

Die Wirkung des Morphins wurde hinlänglich erörtert. Daß Heroin stärker wirkt als Morphin, ist vermutlich auf das Monoacetylmorphin zurückzuführen, das als Carrier für Morphin dient und seine Bindung an die Rezeptoren des ZNS fördert. Die Dauer der Heroinwirkung stimmt nicht mit der Dauer seines Aufenthaltes im Gehirn überein. Auch Monoacetylmorphin ist nur etwa zwei Stunden lang im Gehirn nachzuweisen, so daß es auch nicht der alleinige Träger der Wirkung sein kann. Während der gesamten Wirkungsdauer von Heroin wurde allerdings Morphin im Gehirn nachgewiesen, wobei der Morphinspiegel während dieser Zeit relativ konstant blieb. Die Hydrolyse kann sowohl in der Leber (Hauptanteil!), wie auch im Gehirn stattfinden. (Way, Kemp, Young, Grassetti 1960; Way, Young, Kemp 1965; Way 1968)

Ausscheidungsprodukte aus dem Morphinstoffwechsel

Bei den Ausscheidungsprodukten aus dem Morphinstoffwechsel ist neben freiem Morphin vor allem das sog. gebundene Morphin wichtig. Man versteht darunter Morphin - 3 - Glukuronid. Ein Morphin-6-Glukuronid konnte synthetisch ebenfalls hergestellt werden (Yoshimura 1968). In 6 - Stellung findet man die Glukuronsäure auch beim Codein-Glukuronid vor. Durch exogene Glukuronsäure wird sowohl die Ausscheidungsrate des gebundenen Morphins erhöht, als auch die des freien. Der Körper versteht es also offensichtlich, exogene Glukuronsäure zu nutzen. Andere Verbindungen des Morphins als die Glukuronide konnten nicht entdeckt werden. (Otobe 1960)

Auch die Glukuronidbildung findet in der Leber statt und zwar durch ein Enzym, welches Glukuronsäure von UDP-Glukuronsäure auf Morphin zu übertragen vermag.

Mit Hilfe von β -Glukuronidase konnte diese Bindung wieder gelöst werden und es gelang so, die Glukuronidbildung des Morphins indirekt zu beweisen. Kristallin konnte Morphin- β -Glukuronid erstmals von Woods, Fujimoto und Way (um 1960) aus der Hundegalle und aus menschlichem Urin isoliert werden.

Verteilung des Morphins im Körper

Die pharmakologischen Wirkungen des Morphins stimmen überein mit seiner Konzentration im Gehirn. Neugeborene Ratten zeigten eine gesteigerte Aufnahmefähigkeit für Morphin in das Gehirn, wodurch die LD sehr niedrig war. Zwischen dem 16. und 32. Lebenstag jedoch zeigte sich, ein plötzliches starkes Anwachsen der letalen Dosis (LD). Dafür wird die Blut-Hirn-Schranke verantwortlich gemacht, die so funktioniert, daß sie die Permeabilität des Gehirns für Morphin vermindert. Junge Tiere hatten also bei kleinerer LD₅₀ und geringerem Blutspiegel den gleichen Gehirnspiegel wie erwachsene Tiere.

Eine sehr interessante Beobachtung gelang im Jahre 1962 Milthers, als er in einer Versuchsreihe feststellen konnte, daß das Gehirn in der Lage ist, wenn auch in beschränktem Maße, die N-Demethylierung durchzuführen. Dieser Effekt ist vor allem nach Hepatektomie zu beobachten. Die Gehirnkonzentrationen von Morphin und Nalorphin im ungebundenen Zustand sind dann höher, da die Bindung dieser Pharmaka, die ja fast ausschließlich in der Leber vorgeht, nicht mehr möglich ist und nur freie Analgetika die Schranke überwinden können. Am eindrucksvollsten ist die N-Demethylierung von Nalorphin, die zu Normorphin führt.

Doch nicht nur im Gehirn ist Morphin zu finden. In weit

höherem Maße ist es in den Organen, der Muskulatur, dem Darminhalt und im Blut zu finden. In der Leber liegt Morphin zum größten Teil gebunden vor, sonst großen Teils ungebunden. Erstaunlich ist die sehr schnelle Ausscheidung des Mittels. Der Verteilungsspiegel erreicht ein Maximum an Konzentration nach etwa einer Stunde und nach zwei Stunden schon ist der größte Teil wieder ausgeschieden. Die Ausscheidungsprodukte, die sich im Urin finden, sind in der Hauptsache gebunden, während in den Feces mehr als 90 % frei nachgewiesen werden konnten. Nach 8 Stunden sind auch die letzten Reste von Morphin ausgeschieden, was mit Tritium-markiertem Dihydromorphin (DHM-H³) nachgewiesen werden konnte.

Eine gesteigerte Fähigkeit, Morphin zu binden, wurde bei gewöhnten Tieren festgestellt. Der Gehalt an gebundenem Morphin in der Leber von gewöhnten Ratten war weit höher als bei Kontrolltieren, die die gleiche Menge Morphin erhalten hatten. Der Blutspiegel an freiem Morphin war nach Verabreichung einer LD, die bei gewöhnten Tieren weit höher lag als bei Kontrolltieren, bei beiden Gruppen nicht wesentlich verschieden. Ein ähnliches Phänomen kann bei verlängerter Morphin-Verabreichung beobachtet werden. Der Blut- und Organspiegel an freiem Morphin wird hierbei erniedrigt, während der Urinspiegel stark erhöht wird. Die Niere nimmt unter den Organen insofern eine Sonderstellung ein, als sich hier nach anfänglichem Schwanken nach 14 Tagen ein konstanter Wert einstellt, der jedoch auch niedriger liegt als am ersten Tag. Diese Beobachtungen kann man entweder damit erklären, daß nach verlängerter Gabe eine erhöhte Ausscheidung erfolgt (erhöhter Urinspiegel), oder daß auch bei beginnender Gewöhnung schon die Organe die Fähigkeit zur vermehrten Bindung des Morphins erlangen. Wahrscheinlich wirken beide Faktoren zusammen.

Eine erhöhte Neigung zur Konjugation kann man auch durch Vorbehandlung mit Nalorphin erreichen.

D. ZUSAMMENFASSUNG

Einleitend wurde auf die allgemeine Bedeutung und die Stellung des Morphins unter den Analgetika hingewiesen. Der Stoffwechsel und die Verteilung des Morphins und seiner Derivate im Körper bildeten den Hauptteil. Als einer der wichtigsten Stoffwechselschritte wurde die Desalkylierung erwähnt. Die N-Desalkylierung wurde erläutert an in-vitro-Versuchen und in-vivo-Versuchen. Weitere wichtige Punkte waren die Hemmung und die Stimulierung der N-Desalkylierung, der Mechanismus und die pharmakologischen Konsequenzen, die sich aus diesem Schritt ergeben. Die andere Art der Desalkylierung, die O-Desalkylierung wurde zunächst als Gegenüberstellung beider Desalkylierungsarten gebracht. Der Abbau von Codein zu Morphin diente als Beispiel für die O-Desalkylierung. Am Schluß wurde noch auf die enzymatischen Grundlagen für die Desalkylierung eingegangen.

Ein weiterer wichtiger Schritt des Stoffwechsels von bestimmten Morphin-Derivaten, den Estern, ist die Hydrolyse. Sie wurde am Beispiel des Heronins aufgezeigt.

Die Ausscheidungsprodukte aus dem Morphin-Stoffwechsel als reines Morphin und als Morphin-3-Glukuronid, der Einfluß exogener Glukuronsäure, der enzymatische Mechanismus der Morphin-Glukuronid-Bildung und der Einfluß der Dosis auf die Stoffwechselkurve wurden untersucht.

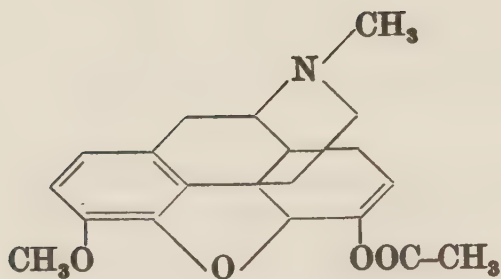
Auf die Verteilung des Morphins im Körper wurde relativ ausführlich eingegangen. Die Bedeutung der Blut-

Hirn-Schranke wurde erläutert. Daß Morphin im Gehirn N-demethyliert werden kann, wurde gezeigt. Es wurden Versuche beschrieben, die mit radioaktiv gekennzeichneten Analgetika arbeiten. Welche Bedeutung die Gewöhnung für Organ und Blutspiegel haben, wurde an Hand einer Versuchsreihe erörtert. Auch der Einfluß verlängerter Verabreichung von Morphin auf den Blut-, Organ- und Urinspiegel, sowie der Einfluß von Nalorphin auf Leber- und Blutspiegel von Morphin wurden untersucht.

Als eines der gebräuchlichsten Derivate wurde auf das Codein und dessen Stoffwechsel eingegangen. Auch hier wurden wieder die N-Desalkylierung, die Glukuronid-Bildung und die Ausscheidungsprodukte abgehandelt.

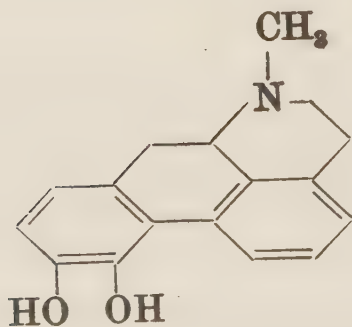
Kurz wurde die Verteilung und der Wirkungsmechanismus des Heroins zusammengefasst.

E. Formelsammlung



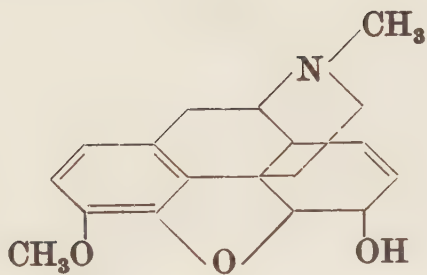
4,5-Epoxy-3-methoxy-17-methylmorphin-6-en-6-ylacetat
=Acetyldihydrocodeinon.

Acedicon, Thebacon*

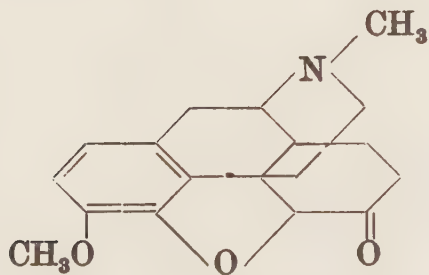


3,4-Dihydroxyaporphin.

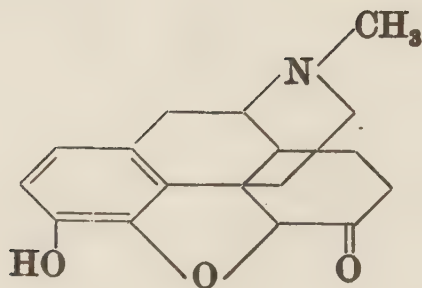
Apomorphin



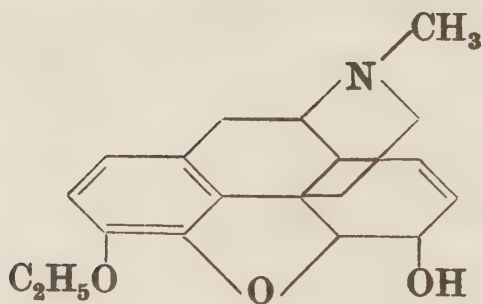
6-Hydroxy-3-methoxy-N-methyl-4,5-epoxymorphinen-(7).
Codein, Methylmorphin



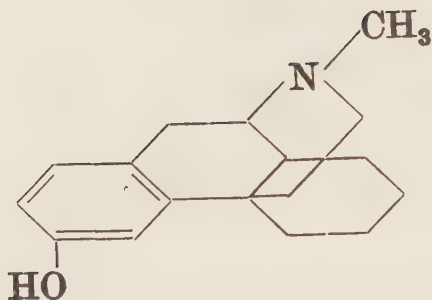
3-Methoxy-N-methyl-6-oxo-4,5-epoxymorphinan.
Dicodid, Hydrocodon*



3-Hydroxy-N-methyl-6-oxo-4,5-epoxymorphinan.
Hydromorphonhydrochlorid, Dilaudid

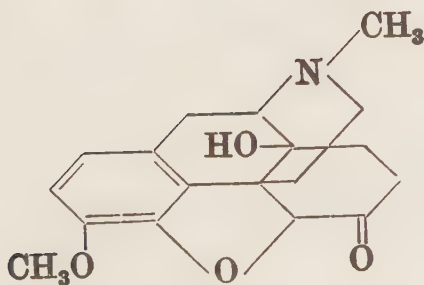


3-Äthoxy-6-hydroxy-N-methyl-4,5-epoxymorphinen-(7)
 = Äthylmorphin.
Dionin



(-)-3-Hydroxy-N-methylmorphinan.

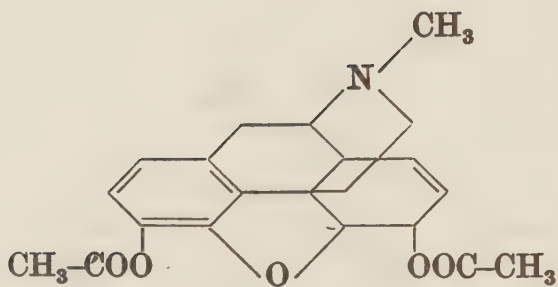
Dromoran, Levorphanol**



14-Hydroxy-3-methoxy-N-methyl-6-oxo-4,5-epoxymorphinan

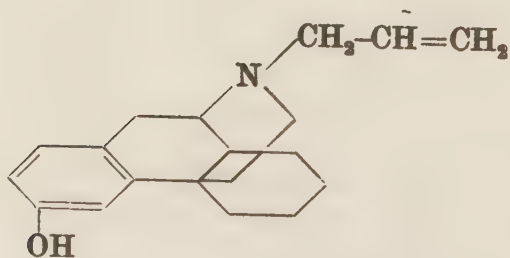
= Dihydrohydroxycodeinon.

Eukodal, Oxycodonhydrochlorid**



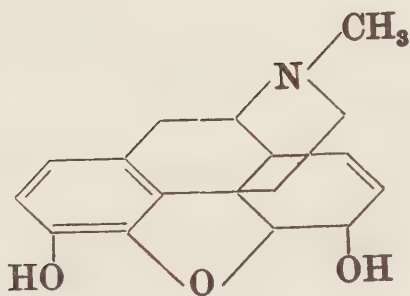
3,6-Diacetoxy-N-methyl-4,5-epoxymorphinan-(7)
= Diacetylmorphin.

Heroin

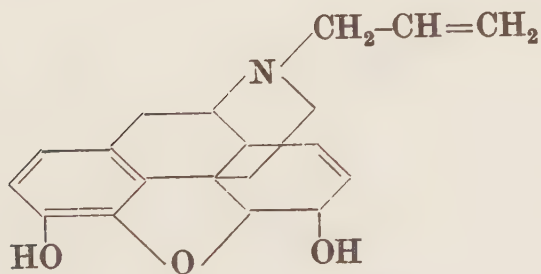


L-3-Hydroxy-N-allylmorphinan.

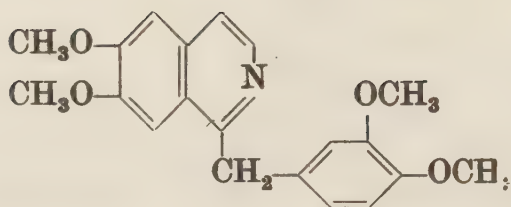
Levallorphan**



3,6-Dihydroxy-N-methyl-4,5-epoxymorphinen-(7).
Morphin

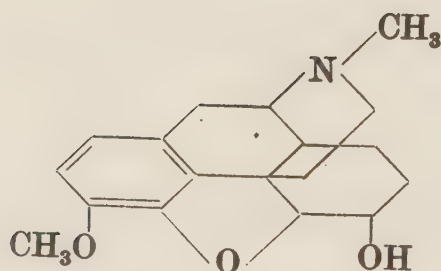


N-Allyl-3,6-dihydroxy-4,5-epoxymorphinen-(7)
 = N-Allylmorphin.
Nalorphin**



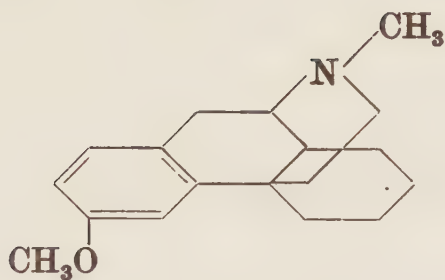
1-(3,4-Dimethoxybenzyl)-6,7-dimethoxyisoquinolin.

Papaverin



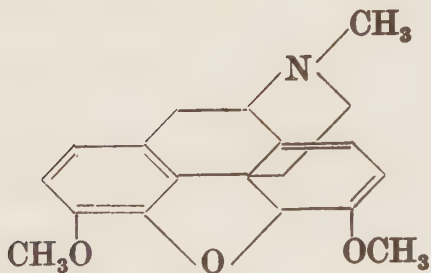
6-Hydroxy-3-methoxy-N-methyl-4,5-epoxymorphinan.

Paracodin, Dihydrocodein**



(+)-3-Methoxy-N-methylmorphinan.

Romilar, Dextromethorphan*



4,5-Epoxy-3,6-dimethoxy-N-methyl-6,8-morphinadien.

Thebain, Paramorphin

F. LITERATURVERZEICHNIS

1. Adler, T.K.

The comparative potencies of codeine and its demethylated metabolites after intraventricular injection in the mouse.

J. Pharmacol. & Exp. Therap. 140, 155 (1963)

2. Axelrod, J.

Possible mechanism of tolerance to narcotic drugs.
Science 124, 263 (1956)

3. Axelrod, J.

Enzymatic N-demethylation of narcotic drugs.

J. Pharmacol. & Exp. Therap. 117, 322 (1956)

4. Axelrod, J. and Cochin, J.

The inhibitory action of nalorphine on the enzymatic N-demethylation of narcotic drugs.

J. Pharmacol. & Exp. Therap. 121, 107 (1957)

5. Axelrod, J. and Inscoe, J.K.

Glucuronide formation of narcotic drugs in vitro and in vivo.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 103, 675 (1960)

6. Beckett, A.H.

Analgetics and their antagonists: Some steric and chemical considerations. Part I. The dissociation constants of some tertiary amines and synthetic analgesics; the confirmations of methadone-type compounds.

J. Pharm. & Pharmacol. 8, 848 (1956)

7. Beckett, A., Casey, A. and Harper, N.
Analgesics and their antagonists: Some steric and chemical considerations. Part III. The influence of the basic group on the biological response.
J. Pharm. & Pharmacol. 8, 874 (1956)
8. Bousquet, W.F., Rupe, B.D. and Miya, T.S.
Endocrine modification of drug responses in the rat.
J. Pharmacol. & Exp. Therap. 147, 376 (1965)
9. Brodie, B.B., Gillette, J.R. and La Du, B.N.
Enzymatic metabolism of drugs and other foreign compounds.
Ann. Rev. Biochem. 27, 427 (1958)
10. Castro, J.A., Gillette, J.R.
Species and sex differences for the N-demethylation of ethylmorphine by liver microsomes.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 28, 426 (1967)
11. Davies, D.S.
Sex differences in the kinetic constants for the N-demethylation of ethylmorphine by rat liver microsomes.
Biochem. Pharmacol. 17, 1865 (1968)
12. Drabowski, R.
The fate of morphine in the organism after its prolonged administration.
Bull. Acad. Pol. Sci. (Biol.) 14, 667 (1966)
13. Driever, C.W. and Bousquet, W.F.
Stress-drug interactions: Evidence for rapid enzyme induction.
Life Sci. 4, 1449 (1965)

14. Dutton, G.J. and Storey, J.D.E.
Uridine compounds in glucuronic acid metabolism.
I. The formation of glucuronides in liver suspensions.
Biochem. J. 57, 275 (1954)

15. Elison, C. and Elliott, H.W.
Studies on the enzymatic N- and O-demethylation of narcotic analgesics and evidence for the formation of codeine from morphine in rats and dogs.
J. Pharmacol. & Exp. Therap. 144, 265 (1964)

16. Fennessy, M.R.
The analgesic action of morphine-N-oxid.
Brit. J. Pharmacol. 34, 337 (1968)

17. Franklin, M.
Studies on the N-demethylation of morphine and other compounds.
Canad. J. Biochem. 43, 1053 (1965)

18. Fraser, H.F.
Human pharmacology and addiction liability of normorphine.
J. Pharmacol. & Exp. Therap. 122, 359 (1958)

19. Fujimoto, J.M. and Way, E.L.
Isolation and crystallization of "bound" morphine from urine of human addicts.
J. Pharmacol. & Exp. Therap. 121, 340 (1957)

20. George, W.J. and Tephly, T.R.
Studies on hepatic microsomal N- and O-dealkylation of morphine analogues.
Molec. Pharmacol. 4, 502 (1968)

21. Hart, L.G. and Fouts, J.R.
Studies of the possible mechanisms by which chlordane stimulates hepatic microsomal drug metabolism in the rat.
Biochem. Pharmacol. 14, 263 (1965)
22. Hug, C.C. jr. and Melleltt, L.B.
Tritium labelled dihydromorphine: An autoradiographic study of its tissue distributions in mice.
Univ. Mich. Med. Bull. 29, 165 (1963)
23. Johannesson, T. and Woods, A.
Analgesic actions and brain and plasma levels of morphine and codeine in morphine tolerant and non-tolerant rats.
Acta Pharmacol. et Toxicol. 21, 381 (1964)
24. Kirsten, H.
The in vivo transformation of morphine and nalorphine into normorphine in the brain of rats.
Acta Pharmacol. et Toxicol. 19, 235 (1962)
25. Kuntzman, R., Lawrence, D. and Conney, A.H.
Michaelis constants for the hydroxylation of steroid hormones and drugs by rat liver microsomes.
Mol. Pharmacol. 1, 163 (1965)
26. Kupferberg, H. and Way, E.L.
Pharmacologic basis for the increased sensitivity of the newborn rat to morphine.
J. Pharmacol. & Exp. Therap. 141, 105 (1963)
27. Kuschinsky, G. und Lüllmann, E.
Zentrales System. 2. Opiate.
Kurzes Lehrbuch d. Pharmakologie 4, 130 (1970)

28. La Du, B.N., Gaudette, L., Trousof, N. and Brodie, B.B.
Enzymatic dealkylation of aminopyrine (Pyramidon) and
other alkylamines.
J. Biol. Chem. 214, 741 (1955)

29. Lassagna, L. and De Kornfeld, T.J.
Analgetic potency of normorphine in patients with
post operative pain.
J. Pharmacol. & Exp. Therap. 124, 260 (1958)

30. MacLennan, D.H., Tzagoloff, A. and McConnell, D.G.
The preparation of microsomal electron-transfer
complexes.
Biochem. Biophys. Acta 131, 59 (1967)

31. McMahon, R.E. and Sullivan, H.R.
The oxidative demethylation of l-propoxyphene by
rat liver microsomes.
Life Sci. 3, 1167 (1964)

32. Mellet, L.B. and Woods, M.A.
Excretion of urinary N-C¹⁴-methylnormorphine and pul-
monary C¹⁴O₂ in the monkey and dog after subcutaneous
injection of labelled drugs.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 106, 221 (1961)

33. Miller, J.W. and Anderson, H.H.
The effect of N-demethylation of certain pharma-
cologic actions of morphine, codeine and meperi-
dine in the mouse.
J. Pharmacol. & Exp. Therap. 112, 191 (1954)

34. Milthers, T.K.
The in vivo transformation of morphine and nalorphine
into normorphine in the brain of rats.
Acta Pharmacol. (Kobenhavn) 19, 235 (1962)

35. Mule, S.J. and Woods, S.A.
Distribution of N-C¹⁴-methyl labelled morphine.
J. Pharmacol. & Exp. Therap. 136, 242 (1962)
36. Nash, T.
The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the Hantzsch reaction.
Biochem. J. 55, 416 (1953)
37. Otobe, S.
Studies on the conjugation of glucuronic acid with morphine. Part 2: Influence of exogenous glucuronic acid upon the excretion of free and bound morphine in urine of rabbits.
Jap. J. Pharmacol. 9, 105 (1960)
38. Penna-Herrerros, A.
Influence of nalorphine in the conjugation of morphine in rats.
Brit. J. Addict. 63, 251 (1968)
39. Penna-Herrerros, A.
Binding of morphine in tolerant rats.
Brit. J. Addict. 63, 255 (1968)
40. Potter, V.R., Watanabe, M., Becker, J.E. and Pitot, H.
Advances in enzyme regulation.
Zit.: George, W.J. Molec. Pharmacol. 4, 502 (1968)
41. Redmond, N. and Parker, J.M.
Metabolism of codeine: Urinary excretion rate of codeine and morphine.
Canad. J. Biochem. 41, 243 (1963)

42. Rubin, A., Tephly, T.R. and Mannering, G.J.
Kinetics of drug metabolism by hepatic microsomes.
Biochem. Pharmacol. 13, 1007 (1964)
43. Rupe, B.D., Bousquet, W.F. and Miya, T.S.
Stress modification of drug response.
Science 141, 1186 (1963)
- 43a Schaumann, O.
Morphin und morphinähnliche Verbindungen.
in: Handbuch der experimentellen Pharmakologie Bd. 12
Herausg.: O.Eichler und A. Farah. Springer Berlin,
Göttingen, Heidelberg 1957
44. Stotz, E.
A colorimetric determination of acetaldehyde in
blood.
J. Biol. Chem., 148, 585 (1943)
45. Stritzel, R.E.
Stress induced alterations in microsomal drug
metabolism in the rat.
Biochem. Pharmacol. 16, 489 (1967)
46. Tephly, T.R.
Inhibition of drug metabolism by steroids.
Molec. Pharmacol. 4, 10 (1968)
47. Way, E.L.
Distribution and metabolism of morphine and its
surrogates.
Res. Publ. Ass. Res. Nerv. Ment. Dis. 46, 13 (1968)
48. Way, E.L. and Adler, T.K.
The biologic disposition of morphine and its
surrogates.
World Health Organization, Geneva (1962)
49. Way, E.L., Nemp, J.W., Young, J.W. and Grasetti, D.R.
The pharmacological effects of heroin in relation-
ship to its rate of biotransformation.
J. Pharmacol. & Exp. Therap. 129, 144 (1960)

50. Way, E.L., Young, J.W. and Kemp, J.W.
Metabolism of heroin and its pharmacologic implications.
Bull. Narcotics 17, 25 (1965)
51. Woods, L.A.
Distribution and fate of morphine in non-tolerant and tolerant dogs and rats.
J. Pharmacol. & Exp. Therap. 112, 158 (1954)
52. Yoshimura, H.
Metabolism of drugs. LX. The synthesis of codeine and morphine glucuronides.
Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 16, 2113 (1968)

Zum Schluß der Arbeit erlaube ich mir, Herrn Prof. Dr. Dr. E. Weinig für die Arbeitsmöglichkeit in seinem Institut, die Förderung der Arbeit und die Übernahme des Koreferates meinen Dank auszusprechen.

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Dr. M. Geldmacher - v. Mallinckrodt für die zahlreichen Anregungen und für die große Hilfsbereitschaft, die mir die Fertigstellung dieser Arbeit ganz wesentlich erleichterten.

Lebenslauf

Am 27. Januar 1947 wurde ich als Sohn des Kaufmanns Emil Gesellensetter und seiner Ehefrau Gusti, geborene Schmidt, in Münchberg geboren.

Vom Herbst 1953 bis Sommer 1958 besuchte ich die Volksschule in Sparneck/Obfr., von welcher aus ich an das mathematisch-naturwissenschaftliche Gymnasium Münchberg im Herbst 1958 übertrat. Im Juli 1967 legte ich hier das Abitur ab. Das Studium der Zahnheilkunde begann ich im Wintersemester 1967/68 an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen, wo ich nach dem Wintersemester 1969/70 die zahnärztliche Vorprüfung und nach weiteren 5 klinischen Semestern im Oktober 1972 das zahnmedizinische Staatsexamen ablegte.

Seit dem 6. November 1972 bin ich als Stabszahnarzt bei der Bundeswehr in Fürstenfeldbruck tätig.

